

N° D'ORDRE
65

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

Par **X. CHAHOVITCH**

Assistant de Physiologie à la Faculté de Médecine

1^{er} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ CHEZ LES
INVERTÉBRÉS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenue le juillet 1922, devant la Commission d'examen

MM. R. GÉRARD. . . .	} <i>Examineurs.</i>
E. COUVREUR. . . .	
F. ROMAN	

Président.



TRÉVOUX
IMPRIMERIE JULES JEANNIN

1922

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE L'IMMUNITÉ CHEZ LES INVERTÉBRÉS

Par X. CHAHOVITCH

N° D'ORDRE
65

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

Par **X. CHAHOVITCH**

Assistant de Physiologie à la Faculté de Médecine

1^{er} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ CHEZ LES
INVERTÉBRÉS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenue le juillet 1922, devant la Commission d'examen



MM. R. GÉRARD. . . . *Président.*
E. COUVREUR. . . } *Examineurs.*
F. ROMAN . . . }



TRÉVOUX
IMPRIMERIE JULES JEANNIN

—
1922

UNIVERSITÉ DE LYON — FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. DEPÉRET, *, * I., ✠, Membre de l'Institut.

Assesseur

M. KÖHLER, *, * I., ✠.

Professeurs honoraire

MM. VESSOT, * I. — BARBIER, * O., * I., ✠. — R. DUBOIS, *, * I., ✠. — VIGNON, *, * I.

Professeurs titulaires

MM. GOUY, *, * I., Membre de l'Institut, Professeur de *Physique*.
GÉRARD, * O., * I., ✠, Professeur de *Botanique*.
DEPÉRET, *, * I., ✠, Membre de l'Institut, Professeur de *Géologie*.
KÖHLER, *, * I., ✠, Professeur de *Zoologie*.
OFFRET, *, * I., ✠, Professeur de *Minéralogie théorique et appliquée*.
LE VAVASSEUR, * I., Professeur de *Calcul différentiel et intégral*.
DULAC, *, * I., Professeur de *Mathématiques pures*.
MASCART, * I., ✠, *Astronomie physique*.
GRIGNARD, * O., * I., ✠, Correspondant de l'Institut, Professeur de *Chimie organique*.
SIRE, * A., *Mécanique rationnelle et appliquée*.
COUVREUR, * I., Professeur de *Physiologie générale et comparée*.
X..., Professeur de *Chimie appliquée à l'Industrie et à l'Agriculture*.

Professeurs titulaires (sans chaire)

MM. VAUTIER, * I., *Physique*.
RIGOLIOT, *, * I., *Physique industrielle*.
COUTURIER, * I., ✠, *Chimie appliquée*.
VANÉY, * I., *Zoologie*.

Maîtres de conférences et Chargés de cours complémentaires

MM. RAY, * I., *Botanique*.
THOVERT, *, * I., ✠, *Physique*.
LOCQUIN, * I., *Chimie générale*.
MEUNIER, *, * I., *Technologie chimique*.
RICHE, * I., *Géologie*.
JOB, *Chimie physique*.
X..., *Astronomie*.
BONNET, * I., *Zoologie appliquée et Zootechnie*.
ROMAN (F.), * I., *Géologie agricole*.
CHIFFLOT, * I., ✠, *Botanique*.
WIERNBERGER, *, * A., *Mathématiques*.
MAYET, *, * I., *Anthropologie*.
GUILLIERMOND, * I., *Botanique agricole*.
PELOSSE, * A., *Sériciculture*.
CLÉMENT, * A., ✠, *Physiologie*.
DONCIEUX, * O. I., P. C. N. S.

Secrétaire

M. CLÈRE, * O. I.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MA BELLE-SŒUR ET A MON FRÈRE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

L'étude de l'immunité chez les animaux supérieurs a été bien fouillée et a donné des résultats très intéressants. Par contre, les phénomènes très complexes qui sont en rapport avec l'immunité chez les invertébrés, ont été très peu étudiés, si on fait exception des travaux concernant la phagocytose en général effectués par Metchnikoff, Kowalevsky, Cuenot, etc. Pourtant, très souvent, pour résoudre les différents problèmes de la Biologie Moderne, les savants dirigent leurs recherches du côté des animaux inférieurs parce que là le choix des espèces animales est bien plus grand que partout ailleurs. La Physiologie Comparée peut et doit très souvent élucider bien des problèmes qui sans elle seraient restés inexpliqués. Nous espérons que notre effort n'aura pas été stérile, si nous avons apporté un peu de vérité solide, une pierre pour continuer à bâtir cet immense édifice qu'est la Science Biologique Moderne.

Si nos lecteurs se demandent pourquoi nos efforts ont été dirigés du côté des invertébrés, les résultats semblant devoir être sans portée pratique immédiate, nous leur répondons d'avance que la Science la plus abstraite est aussi utile que la Science la plus pratique. Il suffit de rappeler que lorsque Metchnikoff a découvert la phagocytose chez les

Daphnies, il n'a pas cru découvrir un des phénomènes les plus intéressants de la Biologie Moderne qui a fait couler tant d'encre. Aussi, lorsque Pasteur commençait à étudier les maladies des vers à soie il n'a pas cru que ses recherches commençaient à l'immortaliser et à le rendre le plus populaire de tous les savants du monde entier. C'est pour dire que tout sert à quelque chose.

Le but d'un physiologiste c'est la recherche du mécanisme d'une fonction, la coordination des faits aboutissant à une relation déterminée. Le physiologiste est, dans les sciences biologiques, ce qu'est le mathématicien qui, après avoir trouvé la valeur de ses inconnues, trace une courbe, laquelle, pour un physiologiste, n'est que la fonction. En un mot, nous avons étudié la fonction défensive des invertébrés.

Le programme que nous nous sommes tracé a été la recherche des moyens de défense chez les invertébrés. Nous n'avons pas étudié spécialement la phagocytose. Néanmoins, dans quelques cas, nous nous sommes appliqué, en déterminant le mécanisme de l'immunité constatée, à voir s'il y avait la phagocytose par les globules sanguins et les différents tissus pour les agents d'infection employés. Depuis les travaux de Metchnikoff, Kowalevsky et Cuenot, la phagocytose a été admise comme le seul procédé de défense des invertébrés. Quant on parlait de défense des invertébrés, il suffisait autrefois de répondre que ce sont les globules sanguins ou bien les organes phagocytaires qui défendaient ces animaux. Nous croyons que notre travail apporte de nouveaux éléments et s'il ne détruit pas la théorie phagocytaire, ce que nous ne prétendons nullement, il apporte néanmoins une large contribution à l'étude de l'immunité chez les invertébrés. Au début, on avait beaucoup exagéré l'importance de la phagocytose. Nous savons aujourd'hui que la phagocy-

tose est un phénomène que l'on doit considérer sous un autre jour. Très fréquemment, on a pris la phagocytose alimentaire pour la phagocytose défensive, ce qui n'est pas la même chose.

Nos recherches ont porté sur les Arthropodes et les Mollusques. Nous avons expérimenté sur les espèces appartenant aux Crustacés, aux Insectes, aux Gastéropodes et aux Lamellibranches. Parmi les espèces étudiées appartenant aux Insectes, nous avons expérimenté sur des animaux adultes et des animaux à l'état larvaire (*Périplenata orientalis*, *Graphosoma lineatum*, Sauterelles, *Bombyx mori* à toutes ses périodes d'évolution). Les espèces appartenant aux Crustacés Décapodes sont : les écrevisses et les crabes. Quant aux Mollusques, ce sont des *Hélix pomatia* et des *Anodonta*.

Donc, notre but étant la recherche des moyens de défense, nous avons employé comme agents d'attaque, de contamination, de conflit, des cultures microbiennes. Au début de ces recherches, on s'est attaché à étudier la flore intestinale normale de quelques animaux et, après avoir isolé quelques microbes, on expérimentait avec eux. En outre, on a expérimenté avec d'autres microbes ne se trouvant pas normalement dans le tube digestif de ces animaux : le colibacille, le bacille d'Eberth, le bacille pyocyanique, etc. Les raisons pour lesquelles nous avons choisi ces agents sont données dans le chapitre des techniques ; nous n'insistons pas. Nous avons recherché tout d'abord, en utilisant des agents divers de contamination, les défenses par le tube digestif, puis par les voies respiratoires et enfin par les humeurs de la cavité générale. Ainsi, d'étape en étape, nous sommes arrivé à synthétiser les faits et à découvrir quelques modalités de cette fonction défensive.

Nous avons fait encore un autre ordre de recherches : y a-t-il des anticorps agglutinants et précipitants normaux dans le sang des invertébrés étudiés par nous et est-il possible de provoquer, par l'injection préalable d'antigène, les anticorps précités ? Nous avons effectué à cet égard de nombreuses expériences ; certes, nous avons démontré dans l'une d'elles l'existence d'un pouvoir agglutinant normal, mais s'agit-il là de quelque chose d'identique au pouvoir agglutinant chez les Vertébrés ? Nous n'osons pas l'affirmer. Mais ce que nous pouvons affirmer, c'est qu'il nous a été impossible d'obtenir des anticorps acquis.

Nous diviserons ce travail en trois parties. Dans la première, nous examinerons successivement :

- I. — *L'Historique.*
- II. — *Techniques.*
- III. — *Recherches personnelles relatives à l'immunité des Insectes.*
- IV. — *Recherches personnelles relatives à l'immunité des Crustacés.*
- V. — *Recherches personnelles relatives à l'immunité des Mollusques.*

Dans la seconde partie, nous exposerons nos recherches relatives aux anticorps :

- I. — *Historique.*
- II. — *Recherches personnelles concernant les anticorps agglutinants et précipitants normaux et acquis.*

Dans la troisième partie nous exposerons :

- I. — *Schéma possible des réactions de la cellule animale.*

Enfin, en dernier lieu, nous formulerons *des conclusions générales*.

Ce travail a été fait sous la direction de notre Maître, Monsieur Couvreur, professeur de Physiologie Générale et Comparée à la Faculté des Sciences. Ses conseils ne nous ont jamais fait défaut. Nous nous rappellerons des heures passées auprès de lui, nous instruisant de la vie scientifique d'un physiologiste cherchant toujours à se rapprocher de la vérité. Le Réel, le Vrai, tels sont ses principes qui ont guidé nos premiers pas. Nous le prions de croire à notre profonde gratitude.

Nous remercions notre Maître, Monsieur Doyon, professeur de Physiologie à la Faculté de Médecine, sous la direction duquel nous travaillons actuellement, de nous avoir reçu dans son laboratoire où nous apprenons à douter, à méditer et à imaginer des expériences.

Nos remerciements vont aussi à Monsieur H. Clément, docteur ès-sciences, chargé de cours de Physiologie à la Faculté des Sciences, dont l'aide nous a été très précieuse. Nous remercions ceux qui nous ont aidé à former notre esprit scientifique : Monsieur le Professeur Depéret, de l'Institut, et Monsieur Riche pour la Géologie ; Monsieur le Professeur Gérard, Messieurs Ray et Chiffлот pour la Botanique générale. Nous n'oublierons pas le concours que Mademoiselle J. Tritchkovitch, assistante du laboratoire d'histologie de la Faculté de Médecine, nous a prêté pour mener à bien nos recherches histo-physiologiques ; qu'elle veuille recevoir nos sincères remerciements.

PREMIÈRE PARTIE

L'immunité chez les Invertébrés

CHAPITRE PREMIER

Historique.

Pour exposer aussi clairement que possible le problème de l'immunité chez les invertébrés, il faudrait grouper les différentes publications se rattachant au même groupe zoologique. Le but de ceux qui cherchent à mettre au point une question doit être : exposition avec méthode et avec clarté. Nous nous proposons de remplir ces deux conditions exigées.

L'immunité chez les invertébrés a été étudiée par différents auteurs. Nous allons tout d'abord voir ce qui a été fait sur l'immunité chez les insectes, ensuite chez les mollusques et enfin chez les crustacés. Ainsi, nous espérons remplir la première condition exigée : *la méthode*.

L'immunité chez les insectes.

Depuis très longtemps, les biologistes se sont préoccupés des relations qui existent entre les parasites et les animaux parasités, car ce qui les a frappés c'est de constater très fréquemment la symbiose d'un animal avec un parasite don-

né. C'est pour cela que beaucoup de biologistes ont consacré de nombreuses années de leur vie à étudier les réactions de l'animal parasité et la vie du parasite lui-même. Aussi, pour être complet, il nous faudrait donner un aperçu historique sur ces problèmes qui sont, à notre avis, en relation intime avec ce travail.

Il est très intéressant de rappeler l'opinion de Guérin-Meneville (1849) qui croyait à la transformation de la matière vivante animale en un végétal, car il avait vu certains corpuscules formant la portion vivante et interne des globules du sang des vers à soie devenir des racines de *Botrytis bassiana*, de ce végétal inférieur qui constitue la maladie connue sous le nom de muscardine. Les travaux de Guérin-Meneville furent critiqués par plusieurs auteurs et en particulier par Fillippi (1850), mais lui aussi a fait de graves erreurs dans ses constatations. Il a dit en effet : « Ces prétendus hématozoaires ne se rencontrent pas exclusivement dans le sang, il y en a au contraire beaucoup plus dans les tissus de la larve et du papillon, seulement c'est un produit morbide chez la larve et un produit normal et constant chez le papillon ». Il est illusoire de prétendre que ces corpuscules sont des produits normaux chez le papillon. Ces mêmes corpuscules furent observés par Leydig (1853) dans un autre genre d'insecte. L'intérêt particulier des travaux de Leydig n'est pas seulement d'avoir reconnu l'existence des corpuscules du ver à soie dans d'autres espèces d'animaux domestiques ou sauvages, mais principalement d'avoir considéré ces petits corps comme un parasite qu'il fallait rapporter à un genre d'organismes très nouveaux et fort singuliers, créé par J. Muller en 1841 sous le nom de psorospermies et de les avoir rangés parmi les espèces végétales. Quelques années plus tard, Cornalia (1856) a

éveillé nettement la pensée de rechercher si le corpuscule n'était pas un signe de mal. Cette opinion fut développée ultérieurement par Lebert et Frey (1856, 1858) en examinant l'insecte malade à toutes les phases de son existence. Enfin, c'est au docteur Osimo (1857) que revient le mérite d'avoir montré la présence des corpuscules dans les œufs de vers à soie, circonstance qui avait échappé à ses devanciers.

Pasteur (1870) faisant la critique du travail de Guérin-Meneville conclut : « De toutes ces observations, il n'est « rien resté dans la science que le fait de l'existence, chez « certains vers à soie malades, de corpuscules ». Néanmoins, nous croyons que le mérite de Guérin-Meneville est bien grand d'avoir constaté que dans certains cas particuliers, il existait dans l'intérieur du corps des vers certains corpuscules qui ne doivent pas se trouver normalement. Il est certain qu'il serait très intéressant d'étudier les réactions des vers parasités, ce que nous n'avons pu réaliser n'ayant pas à notre disposition des matériaux nécessaires. Les recherches de Pasteur sur les vers à soie sont trop connues pour que nous commettions la faute de ne pas les retenir pour montrer les faits démontrés par lui : toute graine qui à l'examen microscopique offre des corpuscules, les possède par hérédité : ils proviennent sans exception de l'intérieur des papillons qui ont donné naissance à cette graine. C'est à l'intérieur des œufs que se trouvent les corpuscules. Toutes les fois que les corpuscules auront apparu visiblement déjà dans les chrysalides jeunes, les œufs des papillons correspondants seront corpusculeux en plus ou moins grand nombre. Au contraire, ils le sont peu ou pas du tout si les corpuscules ne se montrent que dans les chrysalides très âgées ou dans le papillon. Ces constatations sont pour nous d'un très grand intérêt pour appuyer nos résultats expéri-

mentaux sur les vers à soie à différents stades, résultats que nous allons développer au cours de ce travail.

Il est intéressant aussi de constater comment Pasteur expérimentait et comment il étudiait les maladies des vers à soie. Nous esquissons son mode d'expérimentation pour démontrer que la technique employée par nous reste sans critique, car jamais on n'a mis en doute les résultats obtenus par lui. Pasteur démontre que les poussières des litières sont toxiques pour les vers, les poussières de fraîche date et les corpuscules extraits directement de vers ou de papillons corpusculeux vivants ou récemment morts sont aussi toxiques. Si on essaye de contagionner des vers sains par des corpuscules frais après la quatrième mue par plusieurs repas de feuilles corpusculaires alternant avec des repas de feuilles saines, tous les vers font leurs cocons. On dirait que la contagion ne s'est pas faite, mais en réalité elle est bien réelle. La communication de la maladie s'accuse en effet au plus haut chef dans les chrysalides et les papillons, à tel point que beaucoup de chrysalides meurent avant de se transformer en papillons et que leur corps est pour ainsi dire composé uniquement de corpuscules. Si des papillons peuvent se former et sortir de leurs cocons, ils ont souvent l'aspect le plus triste et le mal peut aller jusqu'à l'impossibilité de l'accouplement et de la ponte. Les mêmes expériences reproduites avec les mêmes vers et des repas de feuilles mouillées d'eau pure ou d'eau chargée de débris de chrysalides, papillons ou vers sains, c'est-à-dire exempt de corpuscules, donnent des sujets privés de cet organisme et ayant la meilleure santé apparente. Si les expériences de contagion dont il s'agit s'effectuent sur des vers beaucoup plus jeunes, les choses se passent tout autrement, les vers périssent avant de faire leurs cocons. Pasteur a réussi moins

bien à contagionner ses vers par la peau à l'aide de piqûres. Ainsi il démontrait la réalité des faits, dont les conséquences étaient d'un si grand intérêt.

Balbiani constate que beaucoup de bactéries saprophytes sont pathogènes et même mortelles pour un grand nombre d'insectes et d'araignées. Mais tandis que les insectes riches en leucocytes comme certaines orthoptères, notamment les gryllides, résistent parfaitement à l'introduction d'un grand nombre de bacilles, les espèces pauvres en sang et en leucocytes, comme les lépidoptères, diptères et hyménoptères, sont très sujettes à l'infection par les saprophytes. L'affirmation par Balbiani que si les insectes riches en sang résistent et si les espèces pauvres en sang meurent, c'est que les premiers ont beaucoup de leucocytes, elle peut être retournée en disant : c'est parce que le liquide sanguin est en plus grande quantité chez les uns et en moins chez les autres, qu'il y a des différences au point de vue de la résistance aux infections.

Les insectes, qui sont très sensibles à l'infection par les bactéries les plus répandues et en apparence les plus inoffensives, sont néanmoins très rarement sujets à des épidémies d'origine bactérienne. Les larves d'*Anisoplia austriaca*, dans la Russie méridionale, sont quelquefois envahies par un bacille qui, par son aspect allongé et recourbé en forme de genou, rappelle beaucoup la bactéridie charbonneuse. Au début de l'infection, les larves ne se distinguent en rien des individus normaux et ce n'est qu'après l'envahissement total du sang qu'elles manifestent des signes de maladie bientôt suivie de mort (Metchnikoff). Les grosses larves blanches du coléoptère rhinocéros (*Oryctes nasicornis*) qui se rencontrent fréquemment dans le tan sont très sensibles au vibron cholérique (1/8000 d'une culture de ce microbe

suffit pour donner la septicémie mortelle). Par contre, ces mêmes larves manifestent une immunité naturelle très remarquable vis-à-vis des bacilles charbonneux, mortel pour des lapins, cobayes et souris et supporté sans aucun inconvénient par les larves du rhinocéros. Elles sont également réfractaires aux fortes doses de bacille diphtérique. Cependant, parmi les insectes, il ne manque pas d'espèces sensibles à ces mêmes microbes. D'après Kowalevsky (1894), les grillons prennent très facilement le charbon, même à des températures peu élevées (22°-23°). Par contre, ils sont, d'après le même auteur, réfractaires au bacille de la tuberculose aviaire. Pour expliquer le mécanisme de l'immunité naturelle constatée, Metchnikoff admet que ce sont les phagocytes qui digèrent les microbes, ainsi que Kowalevsky qui admet que ce sont les organes phagocytaires « les rates » qui détruisent les microbes injectés.

M. E. Couvreur (1906) a suivi très attentivement la destinée des microbes chez le ver à soie pendant les périodes de métamorphose et il concluait : « qu'il y a pendant la nymphose (probablement par voie phagocytaire) destruction des microorganismes normaux du ver. Pour les microbes pathogènes, on sait qu'ils passent fréquemment du ver au papillon — les œufs même étant infectés. Il serait néanmoins intéressant de savoir s'ils ne sont pas partiellement détruits ou atténués ». Depuis, M. le professeur Couvreur a fait, en collaboration avec nous, d'autres expériences qui seront indiquées au cours de ce travail.

Mercier (L) a fait bien des recherches en ce qui concerne le parasitisme chez les insectes. Ces cas de parasitisme sont intéressants, car leur étude peut éclairer bien des points relatifs au mécanisme de l'immunité. Mercier (1906) relate l'existence d'un parasite de la blatte de forme levure. Ce

parasite se développe dans la cavité générale comme dans une culture, mais la blatte supporte admirablement son hôte.

Portier P. (1911) observe que chez les chenilles xylophages des lepidoptères, la phagocytose remplace en grande partie la digestion habituelle. La chenille mange du bois et digère des microorganismes. Un certain nombre de ceux-ci persistent inaltérés. Voilà un exemple où la phagocytose remplace la digestion et il est très inexact d'admettre dans ce cas la phagocytose comme moyen de défense quand c'est seulement un acte digestif.

Garin (Ch.) (1918) décrit un bacille, parasite des larves d'anophèles, qui a déterminé une épidémie spontanée chez ces mêmes larves. Ce pouvoir pathogène fut nul sur les sauterelles.

Cuenot, dont le nom sera cité très souvent dans cet exposé historique, s'est plus spécialement attaché à étudier la physiologie des invertébrés. Ce savant a étudié presque tous les groupes d'invertébrés. Il s'est attaché plus particulièrement à l'étude de la phagocytose et naturellement il a exagéré en concluant que la phagocytose est le moyen le plus marqué de défense contre les infections microbiennes et parasitaires. M. Cuénot (1896) a injecté dans le coélome de différents insectes des cultures bactériennes, du sang défibriné de mammifères ou bien des poudres solides en suspension dans l'eau salée à 1 %, amidon de riz, carmin, encre de Chine. Il constate que ce sont les amibocytes qui se chargent de débarrasser l'organisme de ces substances étrangères. Dans le paragraphe où M. Cuenot étudie la défense de l'organisme contre le parasite, ces constatations sont basées sur des observations de *Gryllus domesticus*, *Nemobius* et *Forficula auricularia* et il conclut : « En somme, la phagocytose joue

« un rôle tout à fait minime dans la défense de l'organisme
« contre les parasites ; les parasites dangereux qui déter-
« minent inmanquablement la mort de leur hôte, comme les
« larves de diptères, d'hyménoptères, les gordiens, les
« champignons entomophytes n'éveillent pas la sensibilité
« chimiotaxique des phagocytes et poursuivent tranquille-
« ment leur évolution. Par contre, les seuls parasites pha-
« gocytes sont à peu près inoffensifs. Pour quelle raison les
« phagocytes si actifs à l'égard des particules solides injec-
« tées dans l'organisme, des cellules mortes ou dégénérées,
« se montrent-ils si impuissants à l'égard des parasites, aussi
« bien chez les crustacés que chez les insectes ? » N'y a-t-il
pas dans ces quelques lignes des doutes redoutables con-
cernant la phagocytose comme le seul moyen de défense ?

Léger et Dubosq (1902-1903), étudient les grégaires et l'épithélium intestinal chez les trachéates. Leur animal d'étude est le gryllus domestique, le parasite est la grégaire. Ils concluent que la défense organique est réalisée par les mues.

Après une période de calme dans l'étude de l'immunité chez les invertébrés, une période d'activité scientifique a surgi dans ces dernières années. Il nous faut résumer les travaux des auteurs, en particulier de M. Metalnikoff, de M. Paillot, en ce qui concerne la lutte entre les microbes et les invertébrés. Nous commencerons par analyser les travaux de Metalnikoff qui étaient pour la plupart effectués dans les laboratoires de l'Institut Pasteur de Paris. Le mémoire le plus important, à notre avis, des travaux de Metalnikoff sur les invertébrés est celui qui traite de l'infection tuberculeuse des *Galleria melonella* (1907). On sait que le bacille de Koch est armé d'une enveloppe particulière qui le préserve de tous les agents qui lui sont nuisibles ;

cette enveloppe est composée d'une substance cirreuse particulière qui ressemble par son aspect à de la cire. Or, un animal qui se nourrit de cire est la chenille des ruches d'abeilles, elle vit dans ces ruches, et si elle est privée de cire, elle est vouée à la mort. Lorsqu'on injecte une quantité de bacille tuberculeux, il se passe dans l'intérieur de l'organisme des phénomènes particuliers. Aussitôt après l'injection, une partie des bacilles tuberculeux est rapidement englobée et détruite par les phagocytes. L'autre partie, la plus grande, est fixée par des leucocytes qui forment des amas et des plasmodes à l'intérieur desquels s'accomplit la destruction des bacilles tuberculeux. A ce moment-là, vers ces foyers de destruction affluent d'autres leucocytes lesquels forment une capsule. Derrière cette capsule dense, il se forme parfois un tissu réticulé dont les mailles contiennent des phagocytes isolés ou des amas de phagocytes (Métalnikoff). Les résultats étaient identiques, lorsqu'il inoculait les bacilles de la tuberculose bovine et aviaire. Par contre, lorsqu'on inocule des bacilles de la tuberculose pisciaire, les chenilles succombent au bout de 3 à 4 jours. Dans un travail ultérieur (1920) Metalnikoff étudie l'action de différents microbes sur la chenille. Il constate que les chenilles sont réfractaires contre les microbes pathogènes les plus dangereux qui provoquent toujours une infection mortelle chez les animaux supérieurs (B. tub. aviaire, b. tub. pisciaire, b. diphtérique, tétanique, pesteux, etc.). D'autre part, les chenilles sont très sensibles aux microbes saprophytes ou peu pathogènes qu'il a étudiés (coli, pyocyanique, prodigiosus, subtilis, etc.). Pour ces faits, Metalnikoff se demande : « Cela dépendrait-il de ce que les chenilles sont complètement insensibles aux toxines des microbes pathogènes, aux toxines diphtériques, tétaniques

« et autres et qu'elles sont sensibles aux toxines sécrétées
« par les microbes saprophytes, microbes moins spécifiques
« s'adaptant plus facilement à la vie dans l'organisme des
« animaux invertébrés, milieu qui leur est étranger ? ».

Metalnikoff prétend (1920) pouvoir immuniser les chenilles de *Galleria melonella* contre l'infection mortelle du bacille dysentérique Schiga. Injectée avec une émulsion du bacille Schiga en quantité suffisante, la chenille meurt en 18-25 heures. Mais lorsque Métalnikoff injectait avant ou après l'injection des bacilles de Schiga une petite dose de bactériophage de d'Hérelle, les chenilles ne mouraient pas au bout de 24 heures, comme faisaient les normales, c'est-à-dire celles injectées rien qu'avec des bacilles de Schiga. L'auteur ne donne pas plus de détail, c'est-à-dire encore combien de temps les chenilles ont vécu. Metalnikoff prétend avoir obtenu une immunité acquise contre les bacilles de Schiga en injectant à la chenille une faible dose de vieille culture du bacille dysentérique, on peut la rendre tout-à-fait réfractaire à des doses sûrement mortelles. Dans un exposé à la réunion belge de biologie en 1920, Metalnikoff résume ses recherches en concluant que dans le cas d'immunité naturelle, ce sont les phagocytes qui défendent l'animal, et dans les cas d'immunité acquise, l'essentiel est le changement dans l'activité et la sensibilité des phagocytes. « On peut dire que la cellule s'adaptant à des conditions
« nouvelles change ses réactions. Les réactions négatives
« sont remplacées par des réactions positives. Et dans ce
« changement de la sensibilité et des réactions de la cellule,
« se trouve la cause principale de l'immunité acquise ».

Metalnikoff reprenant ses expériences avec H. Garcher (1921), croit démontrer qu'on peut immuniser avec une rapidité surprenante les chenilles de *Galleria melonella* contre le vibron cholérique.

N. Fiessinger, incité par la communication de Metalnikoff (1920), a fait une note à la Société de biologie (14 février 1920) sur l'immunisation antituberculeuse de la mite d'abeilles. M. Fiessinger confirme les constatations de Metalnikoff. Mais, en plus, M. Fiessinger prétend avoir montré, en 1910, « que l'on peut extraire des mites par dissolution dans « l'eau glycinée et précipitation dans l'alcool, un ferment « typique pour la cire des ruches et modifiant les graisses « bacillaires dissoutes dans le xylol et précipitées dans « l'alcool absolu. Ce ferment joue peut-être un rôle dans la « défense antituberculeuse de la mite ». Après avoir fait une série d'expériences, Fiessinger conclut : « il n'existe donc « pas, semble-t-il, dans le corps de la mite d'abeille de « substance nettement bacillolytique. Le bacille tuberculeux est rendu inoffensif, il s'enkyste et perd son acidophilie, mais il n'est pas détruit du moins pendant les premières heures ».

Hollande (1920) prétend que la formation du pigment brun-noir, dont on constate l'apparition au cours de la phagocytose chez l'insecte, n'est pas en relation avec le revêtement spécial du corps du bacille de Koch, ni avec la nature de ses sécrétions ou de ses substances albuminoïdes. La production du pigment observé ne serait que le résultat de l'action des diastases des leucocytes phagocytes vis-à-vis de tous les éléments figurés qu'ils ingèrent (Hollande). Il précise la formation de ce pigment brun-noir (mélanine). Lorsque le sang de l'insecte renferme une tyrosinase et un chromogène approprié, c'est-à-dire lorsque le sang de l'insecte noircit au contact de l'oxygène de l'air (ce qu'avait déjà remarqué Reugger) les leucocytes phagocytes du sang de l'insecte au cours de la digestion des éléments étrangers (microbes ou corps inertes) agiront par leurs diastases oxydantes, de la

même façon que l'oxygène de l'air sur le plasma sanguin contenu dans la vacuole renfermant le corpuscule incorporé par le phagocyte. Il s'ensuit la formation d'un pigment brun-noir.

Les travaux de M. Paillot sur les microbes des chenilles, et sur l'immunité des insectes, doivent être exposés dans leur ordre de publication. Cette façon de faire nous semble la meilleure pour montrer l'évolution des idées d'un auteur. La polémique surgie entre M. Paillot et nous, à la suite de nos publications, doit être une fois de plus éclairée ; de telle façon la vérité scientifique n'en souffrira pas.

Dans différentes notes, soit à l'Académie des Sciences, soit à la Société de Biologie, Paillot a décrit différents types microbiens et étudié l'action de ces microbes sur les insectes. Nous retiendrons les points essentiels qui sont en rapport avec notre travail, renvoyant le lecteur aux travaux originaux de l'auteur.

A la suite de l'inoculation du bacille *Lymantria adiposus* aux chenilles de *Lymantria* dispar, Paillot a remarqué la désorganisation du tissu adipeux ; on obtient dans le sang des globules de graisse. Chez les chenilles de macrolépidoptères, Paillot dit avoir observé, à la suite de l'inoculation microbienne, l'abondance extraordinaire des éléments en état de mitose. Paillot conclut : « Nous avons donc affaire à « une réaction cellulaire bien définie dont la cause directe « ou indirecte est le microbe introduit dans la cavité générale ». Dans une note parue à l'Académie des Sciences, M. Paillot admet que la réaction qu'il a décrite plus haut est une réaction d'immunité au sens strict du mot. Il prétend ne l'avoir jamais observée chez les insectes qui offrent peu de résistance à l'infection. Résumons en quelques mots les idées de Paillot : *il admet donc que ce sont les éléments*

cellulaires qui sont les agents actifs de l'immunité. Dans une autre note, Paillot prétend avoir pu immuniser les vers gris (*Agrotis*) contre le bacillus *mélolonthae* non liquéfaciens. Il constate que l'inoculation d'une vieille culture de ce microbe préserve l'animal d'une inoculation de culture jeune. Il prétend avoir vu la transformation des microbes en granules, phénomène analogue au phénomène de Pfeiffer. Dans cette note, Paillot dit : « Dans une note précédente, nous « avons émis l'hypothèse que chez les insectes les anticorps « pouvaient être élaborés par les macronucleocytes, c'est- « à-dire par les éléments qui participent seuls à la réaction « de karyokinetose, mais nous n'avons pas encore pu en « donner une preuve décisive ». Dans une note à la Société de Biologie (25 mars 1920), Paillot s'exprime ainsi : « les « chenilles qui présentent les cas d'immunité les plus remar- « quables sont précisément celles où la réaction de karyo- « kinetose se manifeste le plus régulièrement et avec la « plus grande intensité ».

Il nous faut citer maintenant en détail deux notes de M. Paillot qui montrent nettement que cet auteur a eu successivement *deux conceptions* très différentes de la nature de la lutte engagée par certains insectes contre les infections microbiennes : Il attribue dans ces deux notes le même qualificatif *d'immunité humorale à deux procédés* absolument *distincts* de résistance. Il n'a proposé d'ailleurs la deuxième acception du mot qu'après un travail fait par nous en juin 1920 (publié aux C. R. A. S. en février 1921), où nous avons décrit un mécanisme spécial d'immunité (chez les insectes et les mollusques). *Nous tenons à spécifier que c'est donc à nous qu'appartient la priorité de la découverte.*

Dans sa note du 8 décembre 1919 (L'immunité naturelle chez les insectes. Etude d'un cas d'immunité humorale

C. R. A. S.), M. Paillot écrivait : « L'action sur les insectes
« est des plus curieuses. Très pathogène pour le hanneton,
« le coccobacille est sans action sur les chenilles de *lymantria*
« dispar, d'*Euproctis chrysorrhea*, de *Marnestra d'Agrotis*.
« Nous avons déjà dit que ce microbe provoquait plus sûre-
« ment et plus intensément la réaction de karyokinetose,
« chez ces différentes chenilles que n'importe quelle espèce.
« Nous sommes en mesure aujourd'hui d'expliquer le méca-
« nisme très curieux de cette immunité naturelle. Les nom-
« breuses expériences que nous avons faites peuvent être
« résumées en une seule dont nous exposerons les détails ».

« Une chenille adulte de Noctuelle est inoculée le 19
« novembre, à 10 h. 30, avec une goutte d'une émulsion
« concentrée de microbes provenant d'une culture sur
« gélose âgée de 6 jours. Tout le temps de l'expérience, la
« chenille est maintenue à la température de 25°. Le sang
« est examiné un quart d'heure après l'inoculation, puis
« d'heure en heure jusqu'à 18 h. 30, puis ensuite de quart
« d'heure en quart d'heure jusqu'à 21 h. 30 ».

« Pendant la première heure, les microbes ne subissent
« aucun changement apparent, aucune réaction de défense
« ne se manifeste de la part de la chenille. De la deuxième à
« la quatrième heure, les microbes se développent active-
« ment, deviennent très mobiles et prennent la forme cocco-
« bacillaire typique ; l'organisme ne réagit que faiblement,
« une proportion infinie de microbes passe dans le proto-
« plasma de micronucléocyte. A partir de la quatrième
« heure, on observe un commencement d'altération des
« microbes, tout au moins d'une partie d'entre eux : quel-
« ques-uns se transforment en granules, d'autres s'entou-
« rent d'une sorte de capsule fortement colorée en pourpre
« par le colorant de Hollande (imitation du colorant de
« Giemsa) à contours très nets et de forme coccobacillaire.

« A un stade plus avancé, la capsule paraît diffuser dans
« le milieu et l'ensemble microbien apparaît comme une
« tache informe colorée en rose, les granules continuent de
« se former pour disparaître ensuite en grande partie dans
« le sang. Pendant ces transformations, les micronucléo-
« cytes phagocytent à la fois les microbes intacts, les gra-
« nules et, dans une proportion moindre, les microbes
« capsulés. Vers la huitième heure, l'aspect du sang sur
« frottis est le suivant : les microbes libres intacts, quel-
« ques granules et microbes capsulés intacts ou déjà plus ou
« moins altérés, proportion assez élevée de micronucléo-
« cytes avec granules, microbes capsulés et microbes nor-
« maux intraprotoplasmiques. A 21 h. 30, on peut considé-
« rer la réaction comme terminée. Toutes ces expériences
« que nous avons faites peuvent se résumer au type que
« nous venons de décrire. Lorsque la température d'expé-
« rience est inférieure à 25°, la réaction est plus lente. Quand
« une chenille a subi une première inoculation, la réaction
« commence aussitôt dès la pénétration des microbes ; elle
« est très intense et très rapide ; au bout d'une demi-heure
« à 3/4 d'heure, on peut la considérer comme terminée.
« Nous avons pu faire sur une seule chenille 8 inoculations
« successives : la deuxième quatre jours après la première,
« les autres de jour en jour ; toujours la réaction s'est pro-
« duite dans la première demi-heure. A la fin de l'expé-
« rience, les micronucléocytes apparaissent sensiblement
« plus volumineux que dans le sang normal et leurs noyaux
« semblaient noyés au sein d'une masse énorme de granules
« intraprotoplasmiques plus ou moins eosinophiles ou baso-
« philes.

« Incontestablement, le principal rôle de défense dans
« l'organisme des chenilles inoculées avec bacillus mélo-

« l'onthæ, non liquefaciens » *est joué par une bactériclysine*
 « *qui n'est pas préformée dans le sang.* La phagocytose ne
 « joue ici qu'un rôle très secondaire. Cette bactériolysine
 « est certainement élaborée *par d'autres éléments cellulaires*
 « que les micronucléocytes, puisque les microbes ou les
 « granules phagocytés par eux échappent à toute action
 « bactériolytique immédiate et ne sont digérés que très len-
 « tement. Elle ne passe pas dans le sang à la suite de la
 « phagocytose des éléments qui se produisent : en effet, la
 « phagocytose se produit au moment de l'injection et la
 « réaction ne commence que plusieurs heures après cette
 « injection. Nous considérons la bactériolysine comme *une*
 « *véritable sécrétion cellulaire dont la cause directe est le*
 « *microbe inoculé,* ou plutôt un produit de sécrétion de ce
 « microbe. Nous avons montré déjà qu'un tel produit déter-
 « minait chez les micronucléocytes la réaction de kariocy-
 « netose. Y a-t-il corrélation entre les deux phénomènes
 « ,kariocynetose et bactériolysine ? Nous ne pouvons donner
 « aucune preuve décisive en faveur de cette hypothèse,
 « *mais nous croyons néanmoins devoir considérer les micro-*
 « *nucléocytes comme les éléments producteurs de bactério-*
 « *lysine ?* »

Les phrases soulignées montrent qu'à ce moment l'auteur admettait que se sécrétait, sous l'influence du microbe, la substance en amenant la destruction et qu'il considérait les micronucléocytes comme les agents de cette destruction. Voici le texte de la seconde note de M. Paillot (Mécanisme de l'immunité humorale chez les insectes. — C. R. A. S. 14 février 1921) :

« Nous avons écrit, en 1919, un cas d'immunité humorale
 « naturelle caractérisée par la très grande rapidité d'appa-
 « rition du pouvoir bactériolytique dans le sang des inverté-

« brés inoculés. Le pouvoir qui se manifeste quelques
« heures après l'inoculation ne diffère pas sensiblement de
« celui qu'on observe dans l'immun-sérum des vertébrés.
« Après une première inoculation, la bactériolyse des mi-
« crobes reinoculés commence beaucoup plus tôt : ce carac-
« tère est le seul qui permet de différencier l'insecte en
« état d'immunité de celui qui n'a pas encore été inoculé.

« Nous avons essayé dans le sang des chenilles d'*Agrotis*
« *segetum* immunisées contre le *bacillus melolonthæ* non
« liquefaciens γ de mettre en évidence les deux substances
« de Bordet. Si l'on ajoute à du sang des chenilles inoculées
« depuis 24 heures (et maintenu à 24°) une goutte d'émul-
« sion de bacilles dans l'H²O physiologique, on observe une
« transformation rapide en granulation suivie de lyse comme
« dans le phénomène de Pfeiffer. Si l'on chauffe le sang de
« chenille immunisée une demi-heure à 55°, le pouvoir bac-
« tériolytique n'est pas aboli, ni même atténué ; vers 60°-62°
« le sang coagule et se prend en masse ; en brisant le coagu-
« lum et centrifugeant, on sépare une certaine quantité de
« liquide clair dont le pouvoir bactériolytique, celui-ci dis-
« paraît à peu près complètement vers la température de
« 75°. Il ne peut être récupéré par addition de sang neuf
« non chauffé.

« Le sang de chenille immunisé perd rapidement ses pro-
« priétés caractéristiques lorsqu'il est exposé à l'action de
« l'air plus rapidement à 24° qu'à basse température ; il les
« perd de même, mais un peu moins vite, lorsqu'on le sous-
« trait à cette action ; enfin, le pouvoir bactériolytique dis-
« paraît même du sang vivant, quelques jours seulement
« après l'inoculation de la chenille. Le sang inactif ne peut
« être réactivé par action du sang neuf.

« Ni l'action de la chaleur, ni celle de vieillissement ne

« permettent de déceler dans le sang de chenilles en état
« d'immunité, la présence de deux substances comme dans
« l'immun-sérum des vertébrés. Nous sommes donc en droit
« de conclure que ce cas d'immunité constitue une excep-
« tion à la théorie de deux substances. Doit-on admettre
« alors que le pouvoir bactériolytique exerce par l'intermé-
« diaire d'une seule substance, homologue par exemple de
« la sensibilisatrice de l'immun-sérum des vertébrés ou
« voisine des diastases et sécrétée par les cellules du sang ?
« Cette hypothèse serait assez conforme aux idées actuelles ;
« nous-même avons admis en étudiant la réaction celle de
« kariocynetose que les micronucléocytes qui participent
« seuls à cette réaction, devaient jouer un rôle actif dans
« l'élaboration des anticorps.

« A la suite de nos recherches récentes sur le mécanisme
« de l'immunité humorale et sur l'origine du pouvoir bacté-
« riolytique, *il ne nous est plus possible de soutenir telle*
« *opinion*. Si l'on centrifuge du sang de chenille d'Agrotis
« segetum prélevé aseptiquement, qu'onensemence le
« plasma dépourvu de cellules, d'une trace de culture de
« bacille melolonthæ non liquefaciens γ et qu'on aban-
« donne ainsi le milieu à la température de 24°, en évitant
« l'action de l'air, on observe toujours que les microbes vé-
« gètent. Le plus souvent on observe aussi qu'un plus ou
« moins grand nombre se transforment en granulations
« après un intervalle variable, puis se bactériolysent. Pour
« des causes qui nous échappent, mais qui tiennent à la diffi-
« culté d'opérer dans des conditions toujours semblables à
« elles-mêmes, aussi rapprochées que possible des conditions
« naturelles, la réaction provoquée *in vitro* n'a ni la cons-
« tance, ni l'intensité de la réaction similaire qu'on peut
« observer *in vivo*. On observe les mêmes réactions lors-

» qu'on opère sur le dépôt du tube de centrifugation riche
« en cellules.

« Lorsque le sang infecté est largement en contact avec
« l'air ambiant, la réaction ne se produit pas, mais la cul-
« ture reste pauvre.

« *Puisqu'il est possible dans certaines conditions de réali-*
« *ser in vitro avec le sang centrifugé, une réaction humorale*
« *du même type que la réaction produite in vivo, nous*
« *croyons être en droit de conclure que la transformation en*
« *granulation et la bactériolyse subséquente peuvent exister*
« *en dehors de toute activité cellulaire, en dehors même de*
« *l'action d'un anticorps particulier* (nous prenons ce mot
« avec le sens précis qu'on lui donne généralement), les deux
« phénomènes nous apparaissant comme les dernières
« phases d'une série de réactions colloïdales entre les mi-
« crobes et leurs produits et certains constituants du sang
« sans conclure fermement à l'identité de la bactériolyse et
« du phénomène de la dispersion, nous pouvons souligner
« dès maintenant l'analogie assez frappante des deux réac-
« tions, au moins dans le sens particulier qui nous occupe».

Les phrases que nous soulignons exposent *la conception nouvelle* de M. Paillot — action du sang *in vitro* sans intervention d'éléments anatomiques. *Cette conception a été exposée par nous-même dans une note du mois de février 1921 à l'Académie des Sciences à la suite des résultats que nous avons obtenus particulièrement sur le Bombyx mori en Juin 1920.*

M. Paillot, dans une autre note, prétend que les chenilles injectées avec des microbes changent la composition colloïdale de leur sang. « Il est d'ailleurs facile de constater que
« l'équilibre colloïdal n'est pas le même dans le sang des
« chenilles en état d'immunité et dans celui des chenilles

« normales. L'addition d'eau ordinaire détermine une flocculation abondante dans le premier, flocculation qui se traduit par un trouble immédiat, la même addition d'eau en sang normal ne provoque aucun trouble. L'eau physiologique est sans action sur l'un et l'autre sang.

Ces conclusions de M. Paillot nous semblent hypothétiques. Nous ne comprenons pas bien cette flocculation si marquée. Nous pensons qu'un phénomène d'une si haute importance devait être plus détaillé. Or, M. Paillot donne une simple mention. Nous avons essayé de vérifier ses conclusions, elles ne ressortent pas de nos expériences. Une fois de plus nous trouvons une hypothèse de M. Paillot qui, expérimentalement, ne se vérifie pas par d'autres chercheurs, opérant il est vrai sur d'autres insectes.

L'immunité chez les crustacés.

La question de l'immunité chez les crustacés a été peu étudiée. On a surtout étudié les fonctions des globules sanguins et plus particulièrement la fonction phagocytaire. Nous allons simplement donner un aperçu très rapide sur les points qui sont plus particulièrement en rapport avec nos études.

Lubarsch (1891) a tenté des expériences sur certains crustacés marins sans obtenir des résultats. Hermann et Cann (1891) ont réussi à introduire dans la cavité du corps des Talitres un champignon parasite (voisin des oïdiums) et à provoquer ainsi une maladie toujours mortelle pour ces crustacés. Il y a un développement très accentué dans le sang qui se manifeste par ce fait que le sang limpide jusque-là devient sensiblement opalescent. Par suite de ce

développement très accentué du parasite, l'animal meurt. Pendant la maladie, on trouve dans les globules sanguins des parasites, ainsi que dans les cellules périartérielles. Qu'est-ce qui nous dit que dans les expériences de Hermann et Cann les parasites phagocytés n'ont pas été déjà sérieusement touchés par le liquide sanguin lui-même et que ce n'est pas seulement après que les phagocytes les ont englobés comme des corps inertes? Evidemment, c'est une hypothèse qui est très soutenable, vu les résultats auxquels nos travaux ont abouti. Nous ne voulons pas par là ruiner la doctrine phagocytaire comme un des moyens de défense de ces animaux, mais nous insistons sur ce point qu'on a trop oublié, qu'à côté, il y avait d'autres moyens qui sont, à notre avis, bien plus importants que la phagocytose elle-même.

L'origine de la doctrine générale phagocytaire est dans l'étude des maladies des Daphnies, étudiées surtout par Metchnikoff. Nous retenons en particulier la maladie produite par un champignon à bourgeonnement (*monospora bicuspidata*). Les Daphnies sont très commodes pour une étude de ce genre, aussi bien par la transparence et la petitesse de leur corps, que par la fréquence et la variété de leurs maladies. Une Daphnie envahie par le champignon que nous signalons, finit toujours par succomber laissant un cadavre rempli de spores noires. D'autres Daphnies se nourrissent de toutes sortes de détritits qu'elles trouvent au fond des eaux, avalent des spores en forme d'aiguille et s'infectent ainsi par les voies digestives. La spore, débarrassée de son enveloppe dans l'intestin, perce celui-ci et pénètre en partie ou en totalité dans la cavité générale du corps du crustacé. Mais à peine apparue au dehors de la partie intestinale, la spore subit l'attaque de la part des leuco-

cytes amenés par le courant sanguin. Ces cellules se fixent sur la spore, l'enveloppent par leur masse (en se soudant souvent en plasmodes) et lui font subir toute une série de transformations remarquables. La spore englobée par les leucocytes perd d'abord la régularité de ses contours, devient sinueuse et se transforme finalement en un amas de granulations brunâtres dans lesquelles on ne pourrait point reconnaître la spore dégénérée, si on ne connaissait pas leur origine. La preuve de ce que cette dégénérescence est véritablement occasionnée par une influence phagocytaire est fournie par des spores dont une moitié seulement est englobée par des leucocytes, tandis que l'autre reste fixée dans la paroi intestinale ou bien ressort en dehors de la peau de l'animal (! ?). Cette description nous semble très schématique, nous la donnons telle qu'elle a été décrite par Metchnikoff dans son traité sur la pathologie comparée de l'inflammation. Ce travail de Metchnikoff est en effet très démonstratif en ce qui concerne la phagocytose comme un des moyens de défense, mais la critique toujours la même, peut être, là aussi, appliquée. Les parasites n'ont-ils pas été touchés déjà par le liquide sanguin lui-même ? Une autre observation que l'on doit faire est la suivante : les microbes et les parasites du groupe des champignons produisent-ils les mêmes réactions ? *A notre avis, il n'est pas admissible de conclure, en général, des résultats obtenus avec les champignons pour les microbes et c'est là un des grands défauts de la généralisation à outrance de la doctrine phagocytaire.* Metchnikoff a constaté chez d'autres espèces de crustacés que le développement des parasites donne naissance à toute une série de génération de cellules bourgeonnantes sécrétant des poisons qui tuent les leucocytes, et, dans ces cas, Metchnikoff admet que la Daphnie étant

désarmée de ses leucocytes est vouée à la mort. Or, n'est-ce pas la conclusion préconçue ? Quel est l'animal qui pourrait vivre sans ses globules sanguins ? Ne peut-on pas dire que le poison détruisant les globules et même en dehors de toute infection l'animal est voué à la mort ? Nous admettons cette seconde interprétation qui est plus en rapport avec les faits observés.

Mercier et Ph. Lasseur (1911) ont fait des expériences d'inoculation du *Bacillus chlororaphis* chez beaucoup d'animaux d'eau douce. Ils ont fait des inoculations aux écrevisses. Les écrevisses meurent au bout de 24 à 48 heures. Les détails de la mort ne sont pas donnés dans leur travail ni les réactions de la part des écrevisses.

Bruntz (1907) étudie la phagocytose défensive des crustacés au moyen de l'encre. Quelle erreur d'étudier les défenses organiques et la phagocytose défensive au moyen de l'encre et des poudres et de conclure de ces expériences que la phagocytose est le seul moyen de défense des invertébrés !

Parmi les auteurs qui se sont le plus occupé de la phagocytose et, en général, des défenses des invertébrés, c'est le nom de M. Cuenot (L.) qui doit être cité. Les travaux nombreux publiés dans les périodiques scientifiques et surtout dans les *Archives de zoologie expérimentale* nous retiendront. En 1892, dans un mémoire très intéressant (Les organes phagocytaires chez quelques invertébrés. *Archives de zoologie expérimentale*, 1892), M. Cuenot publie des expériences faites sur différents invertébrés et en particulier chez les crustacés. Chez l'écrevisse, après les injections du sang, les glandes branchiales prennent une coloration rouge intense ; elles digèrent les hématies. Les particules solides de nature albuminoïde sont absorbées par les

amibocytes, mais surtout par les organes phagocytaires capables de les digérer rapidement. Cuenot, dans un autre mémoire (1893), étudie la phagocytose par le procédé des injections de sang de mammifère, de carmin et d'amidon. Mais nous n'admettons pas que l'on puisse superposer les résultats obtenus avec les poudres et le sang et conclure que les résultats seront les mêmes qu'avec les microbes. En étudiant au point de vue physiologique le foie chez les crustacés, décapodes, il conclut : « En somme, la paroi
« hépatique oppose une barrière infranchissable à beau-
« coup de produits nuisibles, sinon à tous ; grâce à cette
« propriété, les décapodes peuvent se nourrir d'aliments qui
« seraient toxiques pour beaucoup d'autres animaux et
« contribuer ainsi pour une grosse part au nettoyage des
« plages et des eaux où ils vivent ». Plus loin, Cuenot observe que la sensibilité chimiotaxique des amibocytes est absolument négative à l'égard des parasites. Si les amibocytes jeunes sont des phagocytes assez efficaces vis-à-vis des organes dégénérés, des parasites morts ou des particules solides introduits dans l'organisme, ils restent complètement inactifs vis-à-vis des parasites vivants : Protozoaires, trématodes, sacculines, etc., de sorte que ceux-ci, une fois arrivés à l'intérieur du corps, n'ont absolument aucune lutte à soutenir.

Par cet aperçu rapide, on se rend compte qu'on a peu étudié l'immunité chez les crustacés. Nous n'avons pas trouvé dans la bibliographie des recherches relatives à l'immunisation des crustacés contre les microbes. Comme nous allons le montrer dans le chapitre des recherches personnelles sur l'immunité chez les crustacés, nous sommes les premiers à avoir tenté l'immunisation.

L'immunité chez les mollusques.

D'après nos recherches bibliographiques, le problème de l'immunité naturelle et acquise proprement dite a été peu étudié. On s'est occupé de la phagocytose, on a découvert des organes phagocytaires, mais l'immunité a été laissée à part. Néanmoins, il est utile de jeter quelques regards sur les recherches antérieures aux nôtres pour montrer que le problème n'est pas résolu.

Hoekel (1862), en injectant le mollusque *Theotnys* avec de l'indigo, constate que les granules de cette couleur se retrouvent dans l'intérieur des globules sanguins. Un des chercheurs (Griesbasch) émet des doutes au sujet de la phagocytose des globules blancs des mollusques acéphales. N'ayant pu constater un englobement suffisant après des injections de poudre mélangée avec de l'eau, Griesbasch pense que dans les conditions normales, la phagocytose ne s'opère point chez les acéphales. Metchnikoff n'est pas de cet avis et prétend que c'est la dilution de la poudre colorée dans une trop grande quantité d'eau qui est la cause de l'inexistence de la phagocytose. Kowalevsky (1890) a découvert une forme particulière de phagocytes qui constituent une espèce de rate chez les invertébrés. Les cellules de cette rate engloberaient et digéreraient un grand nombre de corps étrangers (globules sanguins, grains de vitellus, corpuscules de lait).

Karlinsky (1889) a observé que les bacilles charbonneux injectés dans le sang des escargots disparaissent au bout d'un temps très court de leurs corps et que les gastéropodes pulmonés sont absolument indemnes vis-à-vis de ces microbes si redoutables pour tant d'espèces d'animaux.

Kowalevsky a confirmé le fait que les escargots résistent très bien à l'introduction d'une grande quantité de bactéries dans leur corps. Il a vu aussi que les microbes disparaissent du liquide sanguin, mais il les retrouve dans les tissus du pied et surtout dans les cellules qui entourent les vaisseaux pulmonaires. Les morceaux de tissu pulmonaire des escargots injectés avec les bacilles charbonneux donnaient des cultures encore 48 heures après l'injection et renfermaient des bactériidies capables de donner le charbon mortel à des souris. Plus tard, les milieuxensemencés demeuraient stériles et les souris inoculées restaient vivantes (Kowalevsky). L'auteur ne fait pas mention s'il avait expérimenté avec les escargots en vie hibernale ou bien en vie estivale active. En effet, cette distinction est capitale, comme nous allons le montrer plus loin. Nous avons aussi constaté la disparition des microbes au bout d'un temps plus long chez les escargots en hibernation tandis que chez les escargots en estivation active, les résultats ne sont pas les mêmes. Les concentrations moléculaires ne sont pas les mêmes dans ces deux périodes. Rien n'est étonnant que les résultats soient différents.

Pendant l'épidémie de choléra à Constantinople, Remerlinger et Osman Nouri (1908) ont rencontré dans l'organisme des moules beaucoup de bacilles ressemblant aux bacilles cholériques. Les huîtres ont été aussi infectées. Ces animaux ne présentaient pas de signes de maladie et il est probable qu'ils étaient doués d'une immunité naturelle, au moins partielle, vis-à-vis de ces microbes.

Cuenot a fait des expériences chez les gastéropodes pulmonés relatives à la phagocytose. Chez ces animaux, on sait que le tissu conjonctif est rempli de grandes cellules vésiculeuses (cellules de Leydig) sans contenu apparent. Après

l'injection du sang, les globules rouges disparaissent rapidement. Quelques-uns sont avalés par les amibocytes et digérés à leur intérieur, mais la grande majorité d'entre eux est absorbée au bout de une ou deux heures par les cellules de Leydig qui s'en remplissent complètement et débarrassent ainsi l'animal des corpuscules injectés (Cuenot). Pour étudier les organes phagocytaires, Cuenot s'est servi de l'encre de Chine. Chez les pulmonés terrestres, l'encre est prise en masse par des phagocytes fixes qui recouvrent d'un manchon continu l'extrémité des fines artérioles hépatiques. Chez les pulmonés aquatiques, on ne les trouve pas.

Une critique, toujours la même, s'applique aux conclusions de M. Cuenot. En effet, à notre avis, il n'est pas rationnel et exact de conclure que des résultats obtenus avec des poudres soient forcément les mêmes avec des microbes. Il n'est pas indifférent à une cellule de lutter avec un corps inerte et mort et avec un microbe mobile et vivant. Donc, la chose semble bien plus complexe et demande de patientes recherches.

CHAPITRE II

Techniques.

Dans ce chapitre nous décrirons les méthodes et les techniques générales que nous avons utilisées au cours de nos recherches, sans insister sur les détails qui seront donnés pendant l'exposé des expériences. La valeur d'un travail doit se juger d'après l'exactitude de la technique employée et les résultats obtenus sont la fonction des expériences effectuées sur certains animaux dans des conditions déterminées. Il faut que la technique soit rigoureuse, que toutes les conditions nécessaires en vue d'une expérience soient réalisées pour que les résultats soient valables, inébranlables. La méthode scientifique consiste à observer et à expérimenter, dit H. Poincaré. Si le savant disposait d'un temps infini, il n'y aurait qu'à lui dire : « Regardez et regardez bien », mais comme il n'a pas le temps de tout regarder et surtout de tout bien regarder et qu'il vaut mieux ne pas regarder que de mal regarder, il est nécessaire qu'il fasse un choix (Poincaré). En effet, il ne sert à rien d'entreprendre des recherches sur un point quelconque de la science, si la technique est en défaut, car cela conduirait à des résultats très faux. Vérifier toutes les conditions néces-

saires en vue d'une expérience, c'est la première tâche de l'expérimentateur. Rapporter les résultats obtenus aux conditions réalisées dans l'expérience, c'est la seconde tâche du chercheur. Nous croyons avoir rempli toutes les exigences pour que nos méthodes soient scientifiquement établies.

Nous avons fait des recherches sur les contaminations des voies digestives, des voies respiratoires et de la cavité générale de certains animaux. Ces trois ordres d'expériences ont été effectués dans des conditions particulières qu'il nous faut maintenant esquisser.

I. — Contamination par les voies digestives.

Pour réaliser des infections par les voies digestives, nous nous sommes servis de la nourriture préférée de l'animal en expérience, souillée par différents microbes qui nous servaient de moyen d'infection. En général, la nourriture ainsi préparée ne devient pas répugnante et l'animal continue à manger comme si rien ne s'était passé. Nous avons eu soin de changer tous les jours les aliments en les remplaçant par les aliments frais, toujours souillés par des cultures microbiennes, afin d'empêcher la putréfaction des aliments et les causes d'erreur qui pourraient se glisser dans l'interprétation des faits.

1° BLATTES. — La nourriture préférée de ces animaux est la salade fraîche qu'on renouvelait tous les jours. Les feuilles de salade étaient mouillées avec les cultures microbiennes. On pouvait se demander si les blattes, se trouvant dans un milieu d'expérimentation très défavorable, ne refuseraient pas cette nourriture très contaminée. Pour nous en assurer, souvent nous avons sacrifié quelques-unes d'entre

elles et cherché si on pourrait déceler dans leur tube digestif des vestiges de leur salade et, en effet, on remarquait toujours que leurs voies digestives étaient pleines d'aliments. D'une autre façon, on peut s'assurer aussi de la contamination. Nous pratiquâmes souvent le procédé suivant : en prenant la blatte entre nos doigts, la face ventrale regardant en haut, avec une pipette nous posions des gouttes de cultures microbiennes en bouillon et, sous nos yeux, on voyait disparaître dans la cavité buccale de l'animal nos gouttes déposées, la contamination était certaine. Quelquefois aussi on plaçait les blattes dans des ballons et on ne leur donnait que de la culture microbienne comme aliment. Enfin, nous avons toujours examiné l'animal avant l'expérience au point de vue des plaies extérieures qui auraient pu fausser nos résultats.

2° BOMBYX MORI. — L'aliment de choix pour ces animaux est la feuille de mûrier. Ces feuilles doivent être fraîches, non humides. Nous connaissons la particularité qu'ont les vers à soie de ne manger que les feuilles fraîches non mouillées. On les infectait en trempant leurs bords dans les cultures ; l'animal refuse d'abord d'en manger, mais une fois moins humides, les feuilles sont mangées par nos vers comme si elles étaient normales.

3° HELIX POMATIA. — Les escargots sont nourris avec des feuilles de salade ; ces animaux mangeaient devant nos yeux avec beaucoup d'appétit. Les feuilles étaient trempées dans les cultures en bouillon et placées sous une cloche où les animaux vivaient. Il est tout naturel que les escargots en hiver ne mangeaient pas.

En sacrifiant quelques Hélix pendant la digestion on constatait que les tubes digestifs étaient bourrés de morceaux de salade : donc la contamination a été certaine.

4° ECREVISSES. — Nous n'avons pas pu nourrir nos écrevisses, mais néanmoins ces animaux peuvent être gardés dans le laboratoire pendant un temps plus ou moins long, nécessaire à notre observation quotidienne. Ces animaux sont très fragiles ; tous les auteurs qui ont fait des expériences sur eux ont observé le même fait : c'est que normalement, sans avoir subi d'expérience, la mortalité est très grande. Néanmoins, en opérant sur un nombre assez grand et en répétant une expérience plusieurs fois, on est certain du résultat obtenu. D'ailleurs, il est très difficile et même illusoire de nourrir ces animaux dans les aquariums. Pour réaliser l'infection par les voies digestives, nous avons employé un système par lequel forcément l'animal infecte lesdites voies. Par ce procédé, on infecte aussi d'ailleurs les voies respiratoires. En plaçant nos écrevisses dans de petits cristallisoirs contenant un verre d'eau non renouvelée, nous y ajoutons des cultures microbiennes pures, en quantité plus ou moins grande, et nous laissons ainsi les écrevisses un temps plus ou moins long, suivant l'expérience que nous désirions réaliser. Nous avons aussi réalisé la contamination des voies digestives par un autre procédé qui est le suivant : avec une pipette, on aspire par la cavité buccale le liquide gastrique et on le remplace par une quantité égale et même supérieure de culture. Ainsi les microbes sont présents dans l'intérieur du tube digestif et l'infection peut se produire. Nous pensons que l'expérience réalisée de cette façon peut être considérée comme exacte au point de vue technique et que les résultats qui peuvent survenir à la suite de cette ingestion peuvent être notés également comme exacts.

5° CRABES. — Ces animaux étaient infectés par les voies digestives de la même façon que les écrevisses, c'est-à-dire par le procédé de la pipette.

6° ANODONTES. — On placait les anodontes dans des cristallisoirs remplis d'eau contaminée par nos cultures jeunes et virulentes en bouillon liquide et elles étaient laissées ainsi pendant un temps variable suivant l'expérience. Nous avons eu soin de faire constamment bâiller les valves de la coquille en disposant entre elles un morceau de bois, car la coquille, par suite de la rétraction des muscles adducteurs de l'animal, pourrait se fermer, les valves se superposant exactement et ainsi ne pas laisser rentrer de l'eau dans la coquille. Les voies digestives évidemment pourraient échapper à la contamination, le courant d'eau étant suspendu. Nous remarquons que, par ce procédé, on procède aussi à la contamination des voies respiratoires.

II. — Contamination par les voies respiratoires.

Il est facile de concevoir comment on peut réaliser un dispositif pour rendre la contamination certaine. Néanmoins, nous allons exposer les grandes lignes de notre technique à ce sujet.

1° EGREVISSES, CRABES ET ANODONTES. — Les animaux en expérience étaient placés dans des cristallisoirs où l'eau n'était pas renouvelée et on y ajoutait des cultures microbiennes en bouillon, en quantité plus ou moins grande. De cette façon les branchies de ces animaux baignaient dans le liquide contaminé et forcément il y a eu déposition à la surface des voies respiratoires des microbes contenus dans le liquide environnant. Nous réalisions aussi notre infection d'une autre façon : on déposait à l'aide d'une pipette de la culture microbienne sur les branchies elles-mêmes et ainsi nous étions certain que la contamination était réalisée.

D'ailleurs, pour nous assurer d'une façon mathématique de la présence des microbes sur les voies respiratoires, nous avons fait plusieurs expériences que nous allons relater.

EXPÉRIENCE I. — On place dans un cristallisoir contenant un litre d'eau, deux écrevisses. On y ajoute 5 cent.³ de culture du colibacille en bouillon liquide, jeune de 24 heures non diluée. On laisse les animaux séjourner pendant six heures et on les place dans des cristallisoirs contenant de l'eau courante dans des conditions normales. Le lendemain, onensemence un tube à bouillon liquide au neutral roth (réactif spécifique du colibacille), avec un morceau de branchie prélevé à une des écrevisses qui ont servi à l'expérience. Au bout de 24 heures, nous avons eu le virage au jaune canari, caractéristique de la présence du colibacille.

EXPÉRIENCE II. — On place dans un cristallisoir contenant un litre d'eau, deux écrevisses. On y ajoute 5 cent.³ de culture du bacille pyocyanique en bouillon liquide, jeune de 24 heures, non diluée. On laisse les animaux séjourner pendant six heures et on les replace dans les conditions normales. Le lendemain, onensemence un tube à bouillon liquide avec un morceau de branchie, prélevé à une des écrevisses qui ont servi à l'expérience. Au bout de 24 heures, on remarque une belle fluorescence verte, l'indice de la présence du bacille pyocyanique.

Nous n'avons pas fait les mêmes expériences de contrôle avec les branchies des crabes, ni des anodontes. Les expériences réalisées sont d'une netteté telle qu'il était inutile de les refaire avec d'autres animaux placés dans les mêmes conditions d'expérimentation.

2° BLATTES. — Notre technique, en ce qui concerne les blattes, a été différente. Dans certains cas, on a déposé des gouttes de culture microbienne sur les stigmates d'une façon telle qu'il y eut forcément contamination des voies respiratoires. Dans d'autres cas, nous avons employé un dispositif particulier que nous allons brièvement décrire. Si nous plaçons dans un flacon à vide des blattes et que nous les soumettions à une pression atmosphérique de moins en moins grande, il arrivera un moment où la pression intérieure de l'animal sera bien plus grande que la pression extérieure

ambiante. Si par exemple, dans un tube plongeant dans un liquide on diminue la pression, le liquide monte et reste soulevé comme dans le tube de Torricelli (expérience de Torricelli).



Fig. 1. — Flacon à vide.

On peut appliquer le même principe à nos blattes plongées dans un vase où on diminue la pression ; dans ces conditions, grâce à l'élasticité de l'épithélium respiratoire, la tension interne étant plus grande que la pression extérieure, les stigmates se trouvent élargis et de cette façon le liquide contaminé peut pénétrer dans les moindres parties des voies respiratoires et prendre la place de l'air se trouvant avant le vide. Les expériences ci-dessous démontrent que la contamination a été réalisée (fig. 1).

EXPÉRIENCE I. — Des blattes soumises à la contamination par les voies respiratoires (colibacille), par le procédé ci-dessus décrit, sont sacrifiées au bout de 24 heures. On ensemence les tubes trachéaux dans un tube au bouillon au neutral roth. Le lendemain on a un virage au jaune canari, caractéristique de la présence du colibacille dans les voies respiratoires.

EXPÉRIENCE II. — On soumet des blattes à la contamination par les voies respiratoires (bacille pyocyanique), par le procédé décrit. Le lendemain on sacrifie les blattes et on prélève les tubes trachéaux en les ensemençant dans un tube de bouillon. Le lendemain on a une belle fluorescence verte, indice de la présence du bacille pyocyanique.

III. — Contamination par injection dans la cavité générale.

Il faut toujours prendre quelques précautions quand on pratique des injections à certaines espèces animales, dont les particularités anatomiques exigent un siège particulier inoffensif pour les inoculations.

1^o ECREVISSES. — Chez les écrevisses il faut tenir grand compte de l'endroit où on va faire l'injection. Il ne faut jamais faire l'injection en passant par le milieu des anneaux abdominaux, car au milieu sont échelonnées différentes parties importantes de l'organisme, tel que le système nerveux sur la face ventrale ou bien encore l'intestin terminal qui, piqué, pourrait contaminer le milieu intérieur. Généralement, nous avons fait nos injections latéralement entre le deuxième et le troisième anneau ou bien entre le troisième et le quatrième. Quelquefois nous faisons des injections en passant par une des articulations de l'animal. Il faut se servir d'une aiguille très fine, car en employant une aiguille un peu forte, il nous est arrivé d'avoir une mortalité très grande et inattendue. Nous avons cherché l'origine de la mort et nous sommes vite arrivés à la cause : il s'agissait de la persistance d'un trou fait par l'aiguille par lequel forcément il y avait l'établissement d'un courant entre le milieu intérieur de l'animal et l'eau, dans le cas particulier. Evidemment la mort, dans ce cas, est facile à expliquer et on ne peut pas tenir compte des résultats obtenus.

On peut se rendre compte facilement du temps de diffusion du liquide injecté. Ce temps est très court ; en quelques minutes, la répartition est générale. Les expériences ci-dessous nous démontrent la réalité de ce fait :

EXPÉRIENCE I. — On injecte entre deux anneaux latéralement sur la face ventrale à une écrevisse 0,2 cent.³ d'une solution de bleu de méthylène. Au bout de quelques minutes, l'animal devient bleu dans les parties transparentes, indice de la diffusion du colorant.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à une écrevisse, entre deux anneaux, 0,2 cent.³ d'une solution de rouge neutre. Au bout de quelques minutes la diffusion est faite, on remarque que l'animal devient rougeâtre.

2° CRABES. — Ces animaux étaient inoculés de la même façon que les écrevisses, c'est-à-dire entre les anneaux ou bien dans une des articulations.

3° BLATTES, VERS À SOIE. — Les injections aux blattes se faisaient entre les anneaux, de telle sorte que l'aiguille fût autant que possible dans l'axe même du corps de l'animal, c'est-à-dire dans le sens horizontal et non pas dans le sens vertical par rapport à l'animal. En effet, on peut très facilement blesser le tube digestif si on tient son aiguille perpendiculaire à l'animal et ainsi réaliser une grave blessure et une contamination par les microbes des voies digestives.

Les injections aux vers à soie ont été pratiquées de la façon suivante: elles étaient réalisées par les pattes. On piquait une patte et on laissait écouler une ou deux gouttes du sang, car les vers étant sous une très grande pression intérieure, sous l'influence de l'injection, cette pression augmente. On pouvait ainsi déterminer des troubles de la circulation générale qui pourraient avoir leur importance dans l'interprétation des faits. On injectait alors notre liquide, on liait la patte et ainsi l'hémorragie a été toujours écartée.

4° HÉLIX POMATIA. — Les injections aux escargots étaient pratiquées dans le pied. Là, en effet, l'animal ne risque rien au point de vue de la blessure d'un organe important et on a un avantage considérable. Vu l'élasticité considérable de cette partie de l'animal et la contractilité très marquée, par

ses contractions violentes, l'animal fait pénétrer le liquide injecté dans la région environnante et presque jamais on ne perd une seule goutte du liquide si l'injection est bien pratiquée. Il a été intéressant de savoir en combien de temps la diffusion du liquide injecté dans le pied se faisait dans l'intérieur de l'animal. Pour nous en rendre compte, nous avons réalisé plusieurs expériences :

EXPÉRIENCE I. — On pique rien que la peau d'un escargot avec une aiguille trempée dans une solution de rouge neutre. On suit attentivement la diffusion de la couleur par la coloration successive de la région environnante. La coloration des tissus se fait très lentement ; au bout de six heures, on remarque que tout autour de l'endroit où la piqûre a été faite, la coloration apparaît, mais très faiblement.

EXPÉRIENCE II. — On injecte une à deux gouttes de la solution concentrée de rouge neutre à un escargot. On tombe dans une lacune, à quelques millimètres de profondeur. Immédiatement la diffusion se fait vite ; au bout de six heures toute la région environnante est fortement teintée et au bout de 24 heures l'animal est complètement rouge.

Donc, généralement on tombe dans une lacune et de là l'absorption se fait rapidement et on est certain que le liquide s'est diffusé partout dans l'organisme.

5° ANODONTES. — Les injections aux anodontes étaient pratiquées dans leur pied, généralement sur les côtés latéraux et dans la partie postérieure ou au milieu. Après l'inoculation nous laissons pendant quelques minutes l'animal injecté en dehors de l'eau. Là aussi, nous nous sommes demandé comment se fait l'absorption et en combien de temps. Pour résoudre le problème, nous avons institué des expériences :

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille trempée dans une solution concentrée de rouge neutre une anodonte. Au bout de quelque temps (une à deux heures), on remarque une légère teinte de la région environnant le point où la piqûre a été faite. Néanmoins, l'absorption se fait très lentement.

EXPÉRIENCE II. — On injecte une ou deux gouttes de la solution concentrée de rouge neutre à une anodonte sur la région latérale. Au bout de 24 heures, l'anodonte est teintée tout entière. Donc l'absorption se fait très facilement.

IV. — Technique histologique.

Nous avons eu recours à la technique histologique pour résoudre quelques problèmes généraux relatifs à l'englobement des microbes par certains tissus : intestin, hépatopancréas, etc.

Le frottis, le grattage est suffisant pour savoir si un tissu renferme des microbes, mais la coloration dans la coupe histologique est indispensable pour étudier la distribution des microbes, leur quantité, etc. Nous avons employé comme fixateur le liquide de Müller. Nous avons procédé de la façon suivante : nos animaux mis en expérience pendant un temps voulu, étaient sacrifiés et les organes prélevés étaient immédiatement mis dans le liquide fixateur. Nous avons eu soin de faire les dilutions nécessaires avec l'eau avant d'arriver dans le flacon contenant du liquide de Müller non dilué (généralement pendant une semaine), dans le flacon contenant le liquide de Müller pur, les pièces étaient laissées pendant une semaine. De là, les pièces passaient par les alcools à 60°, à 80°, 95°, 100°. Au sortir de l'alcool absolu, la pièce est plongée pendant 24 heures dans le xylol à la température du laboratoire. Puis elle est mise, pendant 24 heures, dans un bain contenant de la paraffine et du xylol et enfin dans un bain contenant de la paraffine seule pendant 24 heures. Les coupes sont faites par un microtome des plus perfectionnés et l'on refait en sens inverse la série de manipulations précitées avant la coloration. La coloration a

une importance primordiale dans les coupes où on veut découvrir des microbes dont on ne connaît pas d'avance la propriété. On doit se servir d'une méthode pouvant colorer tous les microbes indistinctement. Si les microbes prennent le Gram et se colorent par l'Erlich, il faut employer ces méthodes, mais, dans le cas contraire, il faut employer d'autres colorants. Kühn conseille le bleu de méthylène comme la matière qui colore le mieux l'ensemble des bactéries.

Nicolle recommande la thionine. Nous avons employé ce colorant. Il ne surcolore pas ; il constitue le réactif colorant le plus énergique et le plus sûr, grâce à son affinité pour les microbes et sa faible solubilité dans l'alcool absolu. La coupe est débarrassée de la paraffine à l'aide de xylol, puis traitée par l'alcool absolu ; séjour d'une minute à deux minutes dans la solution de la thionine phéniquée ; lavage à l'eau, deshydratation par l'alcool absolu ; éclaircissement au xylol et montage au baume.

V. — Choix des microbes.

Au début de nos recherches, nous avons employé plusieurs espèces microbiennes comme agent d'infection : les microbes isolés de l'intestin de la blatte d'une part et les microbes non présents dans le tube digestif de cet animal. Nous avons choisi parmi les nombreuses espèces microbiennes bien connues, celles dont les caractères particuliers sont très faciles à mettre en évidence.

Les microbes isolés du tube digestif de la blatte sont nombreux, mais nous avons expérimenté plus particulièrement avec un microbe que nous avons appelé A. Nous

avons isolé aussi quelques levures, mais leur étude n'ayant pas été faite assez en détail pour les identifier, nous n'avons fait avec elles que quelques expériences. D'ailleurs, le microbe A est un bacille poussant à la température du laboratoire et très difficilement à l'étuve à $+ 37^{\circ}$. Il pousse bien sur gélose en donnant des cultures blanchâtres. Au microscope c'est un bacille qui n'est pas mobile. Nous nous proposons de décrire ailleurs ses caractères particuliers. Les résultats que nous avons obtenus avec ce microbe A sont très intéressants. Nous avons aussi essayé l'action du b. d'Eberth, mais cet agent nous donnant les mêmes résultats que les autres microbes employés, nous nous sommes bornés à deux espèces microbiennes : *le bacille pyocyanique* et *le colibacille*.

Nous n'allons pas donner tous les caractères de ces microbes qui sont très bien décrits et analysés dans les livres de bactériologie. Néanmoins, il est nécessaire de se rappeler quelques points pour se mettre, au point de vue du principe adopté, dans les conditions voulues.

Le bacille pyocyanique peut vivre à une basse température, nécessaire pour nous, étant donné que nous avons expérimenté sur des animaux à température non constante, variant avec la température du milieu ambiant. Mais nos animaux se trouvant toujours à une température suffisante pour que la vitalité du microbe ne fût pas compromise, cette température était largement suffisante pour le développement de ce microbe. En effet, la température du laboratoire variait entre $+ 16^{\circ}$ et $+ 22^{\circ}$, largement suffisante pour le développement du bacille pyocyanique qui cultive de $+ 15^{\circ}$ à $+ 43^{\circ}$. C'est un bacille mobile, possédant un seul cil, prenant toutes couleurs basiques d'aniline. Le bacille pyocyanique sécrète des toxines que l'on peut obtenir en filtrant les

cultures en bouillon. Un des caractères biologiques des plus importants du bacille pyocyanique c'est sa propriété de produire des pigments : pyocyanine bleue et pigment vert fluorescent de Kühn. En effet, si on ensemence le bacille pyocyanique dans un tube à bouillon liquide, on obtient au bout de 8 heures un léger disque de fluorescence verte et au bout de 24 heures la culture devient verte (la coloration verte des bouillons est due au mélange de pyocyanine bleue avec un pigment fluorescent vert).

Le second microbe qui a servi à nos expériences est le colibacille. C'est un microbe très pathogène pour les animaux sur lesquels nous expérimentons. Il existe dans le tube intestinal de l'homme et des animaux. Il est mobile, végète de $+4^{\circ}$ à $+46^{\circ}$, donc il végète à une température très basse, nécessaire à nos expériences qui, nous l'avons dit, ont porté sur les animaux dont la température n'est pas constante, variant avec la température extérieure. Nous n'allons pas donner tous les caractères biologiques de ce microbe, mais nous voulons insister sur les caractères qui nous ont servi pour déceler sa présence dans un milieu. On connaît sa propriété de faire rapidement virer au rouge le bouillon lactosé et tournesolé, de coaguler en 24 heures le lait, de faire virer au rouge le petit lait tournesolé. *Nous avons surtout utilisé le caractère de faire tourner au jaune canari avec fluorescence verte le bouillon au neutral roth.* Ce caractère nous semble très précieux en nous permettant toujours de constater la présence du colibacille dans un liquide donné.

Donc, en résumé, nous avons utilisé les caractères biologiques suivants pour mettre en évidence la présence de nos microbes : *la belle fluorescence verte pour le bacille pyocyanique et le virage au jaune canari pour le colibacille, du bouillon au neutral roth.*

A la suite d'une de nos publications a surgi une critique de la part de M. Paillot. L'auteur s'exprime ainsi : « Les deux
« auteurs ne nous disent pas si après un contact de 24 ou
« 48 heures le mélange du sang des vers à soie ou du suc
« digestif et de bacille pyocyanique et de bacille coli est
« devenu stérile. Or, pour affirmer que les bacilles ont perdu
« leur vitalité, il ne suffit pas de montrer que l'un ne déve-
« loppe pas de fluorescence verte et que l'autre ne fait pas
« virer au canari le bouillon au rouge neutre. En effet, au
« cas probable où il se développe des microbes d'infection
« secondaire dans les bouillons ensemencés avec les mé-
« langes, les produits de culture de ces microbes peuvent
« suffire à empêcher la production de pigment fluorescent
« par le bacille pyocyanique et le virage du bouillon en
« rouge neutre par le coli, ou tout au moins à masquer ces
« réactions. On sait qu'une modification légère de la com-
« position des milieux de culture suffit pour empêcher le
« bacille pyocyanique de produire son pigment fluorescent.
« Le critérium adopté par MM. Couvreur et Chahovitch ne
« saurait donc suffire pour apprécier l'action morbide des
« humeurs du ver à soie ou de la chrysalide sur les bacilles
« expérimentés ».

La première chose que nous répondrons, c'est que nous avons expérimenté toujours dans les mêmes conditions, donc que nos résultats sont toujours comparables. M. Paillot ne croit pas que le virage au jaune canari du bouillon au neutral roth soit suffisant pour mettre en évidence le colibacille dans un liquide. A ce doute, nous nous contenterons de répondre par les faits suivants :

Le procédé du neutral roth est un procédé de choix pour la recherche qualitative du colibacille dans l'eau. Il a été préconisé par Rothbergeren en 1898, puis par Sauvage. Le

colibacille fait virer le milieu en 24 heures (48 heures au plus) au jaune canari avec fluorescence verte (bulles gazeuses). Sauvage conclut : « Le colibacille seul donne tous les jours une réaction possible en 24 ou 48 heures. Il se produit toujours des bulles gazeuses si on a affaire au colibacille ».

Donc, si la critique de M. Paillot est justifiée, il faudrait rayer des livres de bactériologie le procédé au neutral roth. Beaucoup de laboratoires où se pratiquent des analyses qualitatives d'eau se servent de ce procédé. D'ailleurs, les nombreuses expériences que nous avons réalisées nous prouvent bien que nous avons raison d'employer ce procédé et jamais il ne nous a donné de déboires. Dans nos expériences que nous avons citées plus haut où nous avons recherché les microbes dans les voies respiratoires, nous avons eu le virage au jaune canari nous indiquant la présence du bacille. Evidemment, en prélevant les pièces respiratoires, nous avons forcément été souillés par l'eau (l'eau du Rhône ne contient pas de colibacille — expérience a été faite) dans laquelle on a de différents saprophytes. Malgré cet inconvénient, nous avons eu des faits certains. Voici d'autres expériences :

EXPÉRIENCE I. — On mélange les liquides organiques non aseptiques des différents animaux sur lesquels nous avons pratiqué nos expériences et on y ajoute une à deux gouttes de la culture colibacillaire. On ensemence immédiatement ce liquide complexe dans un tube à bouillon au rouge neutre. Au bout de 24 heures, le virage au jaune canari est très net, indiquant la présence du colibacille dans la culture. Ceci indique que, dans un liquide où on a plusieurs espèces microbiennes, ces espèces n'empêchent pas que le coli fasse virer le rouge neutre.

EXPÉRIENCE II. — On prend de l'eau ordinaire du Rhône et on y ajoute une certaine quantité de colibacilles, suffisante pour contaminer l'eau ; on ensemence cette eau dans un tube à bouillon au rouge neutre, le virage au jaune canari est effectué au bout de 24 heures, ce qui nous indique que les

saprophytes se trouvant dans l'eau n'empêchent pas que le coli fasse virer le rouge neutre au jaune canari.

EXPÉRIENCE III. — On prend le tube digestif de la blatte. On le triture. On y ajoute du colibacille. On enseme une goutte de ce mélange dans un tube à bouillon au neutral roth. Au bout de 24 heures, on a le virage au jaune canari, indice de la présence du colibacille. Donc, même les microbes du tube digestif de la blatte n'empêchent pas que le coli fasse virer au jaune canari le rouge neutre.

De toutes ces expériences, il résulte que notre manière d'expérimentation est justifiée et que la critique de M. Paillot tombe devant ces expériences.

En ce qui concerne le bacille pyocyanique, nous avons réalisé aussi plusieurs expériences qui nous montrent que le critérium adopté de la vitalité du bacille pyocyanique est suffisamment justifié.

EXPÉRIENCE I. — On fait le mélange de plusieurs liquides des différents animaux sur lesquels nous avons pratiqué nos expériences. On y ajoute deux gouttes d'une culture en bouillon liquide du bacille pyocyanique. On enseme immédiatement une goutte de ce mélange dans un tube à bouillon liquide. Au bout de 24 heures, on a une belle fluorescence verte.

EXPÉRIENCE II. — On a dans un tube à essai de l'eau ordinaire. On y ajoute du bacille pyocyanique, dont l'eau est ainsi contaminée par ce bacille. On enseme cette eau. Au bout de 24 heures on a une belle fluorescence verte.

EXPÉRIENCE III. — On prend le tube digestif de la blatte. On le triture. On y ajoute du bacille pyocyanique. On enseme une goutte de ce mélange dans un tube. Au bout de 24 heures on a une belle fluorescence verte.

Donc le manque de fluorescence verte indique l'absence du bacille pyocyanique ; son existence marque la présence du bacille pyocyanique.

Il est inutile de dire que dans les liquides ci-dessus, ensemenés sans adjonction du coli et du bacille pyocyanique, il n'y avait pas de virage au jaune canari du rouge neutre, ni la fluorescence verte.

Conclusion : Le critérium de vitalité du bacille pyocyannique et du bacille coli, adopté par nous, est complètement justifié comme le démontrent, d'une façon précise et nette, nos expériences et les expériences des auteurs antérieurs.

VI. — La température.

Lorsqu'on étudie l'immunité en général, il faut tenir grand compte de la température soit de l'animal, soit du milieu ambiant. Il est évident, étant donné que nos expériences ont porté surtout sur des animaux à température non constante, que leur température est celle du laboratoire. Si cette température est très basse, on peut nous objecter qu'à cette température, étant donné que le microbe ne se développe pas, c'est pour cela que l'animal résiste et présente cette immunité. En effet, l'expérience célèbre de Pasteur nous montre l'importance considérable qu'on doit attribuer à la température. L'expérience de Doyon et Courmont sur la grenouille inoculée avec la toxine tétanique est très instructive à ce point de vue.

En hiver, nos animaux étaient placés dans des conditions telles que la température nécessaire au développement microbien était assurée. La température a toujours été supérieure à $+ 20^{\circ}$. Nous avons essayé de placer nos escargots dans l'étuve à une température de $+ 37^{\circ}$, mais l'expérience suivante nous montre l'impossibilité d'existence d'une vie d'un hélix à une telle température.

EXPÉRIENCE I. — On place à l'étuve deux hélix à la température de 37° . Le lendemain, les escargots sont vivants mais ne paraissent pas normaux. Le surlendemain, on trouve les escargots morts.

Donc cette expérience nous montre que l'hélix ne peut pas vivre à une température aussi élevée, mais cela n'est pas nécessaire. Jamais nos animaux n'ont été à une température où les microbes utilisés (coli et pyocyanique) ne pouvaient pas se développer.

CHAPITRE III

L'immunité chez les insectes.

Avant de commencer l'exposé de nos recherches expérimentales sur l'immunité chez les insectes, nous allons donner, pour plus de clarté, quelques définitions pour se rendre compte de la valeur des termes employés.

L'immunité, branche de la physiologie générale, c'est l'histoire d'un conflit et de ses péripéties successives. L'étude de l'immunité envisage spécialement dans le parasite les fonctions et le caractère chimique qui lui permettent d'entrer en conflit avec les facteurs de la défense et d'éveiller la réaction. On a deux variétés d'immunité : l'immunité naturelle, d'une part, et l'immunité acquise, d'autre part. La définition d'immunité naturelle est facile à donner : c'est la défense naturelle, préexistante, d'une espèce animale ou d'un individu humain contre un poison ou un parasite donné, ce parasite ou ce poison pouvant être pathogène pour une autre espèce animale. La définition de l'immunité acquise pourrait être la suivante : un animal pour lequel un microbe ou un poison donné était très pathogène, déterminait des accidents très graves, à la suite d'une première atteinte, devient réfractaire à la seconde attaque par ce

même microbe. L'immunité naturelle est spécifique, c'est-à-dire que si un animal possède une immunité naturelle vis-à-vis d'un microbe donné, il n'a pas forcément la même immunité pour un autre microbe et il peut succomber facilement à l'infection par ce second microbe. L'immunité acquise est spécifique au plus haut chef, puisque un animal peut présenter des accidents infectieux graves et même succomber à la suite de l'inoculation d'un autre microbe que celui qui lui a conféré l'immunité, et pour lequel l'animal possède une immunité remarquable.

L'analyse physiologique du mécanisme intime de l'immunité est d'une complexité assez grande ; néanmoins, on peut arriver à se rapprocher de la connaissance de ce mécanisme. Il faut se garder surtout de la généralisation trop hâtive, qui pourrait être néfaste surtout ici, dans l'étude de l'immunité chez les invertébrés. Pour assurer son harmonie, l'organisme assigne à chacun de ses éléments constitutifs un rôle déterminé, il associe et coordonne, discipline, déclanche ou arrête à l'instant opportun tel rouage : il tire parti de l'antagonisme aussi bien que de la synergie, il excite, modère ou inhibe (Bordet). Par l'élasticité de ses forces défensives, l'organisme met à son propre service les forces suffisantes plus ou moins électives et combat, mais si son adversaire est plus puissant que ses forces, il fléchit et tombe.

Nous allons exposer successivement nos recherches en commençant par les expériences effectuées sur les voies digestives, puis sur les voies respiratoires et enfin dans la cavité générale. Parmi les insectes, nous avons expérimenté sur plusieurs espèces appartenant à des groupes différents. Nos recherches ont porté également sur des animaux à métamorphose et nous avons suivi les réactions de l'animal en expérience dans les différents stades de son développement.

Nos recherches ont porté aussi sur des animaux adultes. En effet, *à priori*, il est très rationnel de supposer que l'animal réagit différemment à ses périodes successives de développement, ce qui ne serait pas très surprenant, étant donné les réactions très complexes qui se produisent dans un organisme en période de transformation.

Donc, nous allons étudier successivement quelques espèces zoologiques en commençant par les blattes (*Periplaneta orientalis*).

***Periplaneta orientalis* (Cursoria, blatta) (Orthoptères).**

Les blattes appartiennent au groupe des Orthoptères. Elles possèdent des synonymes : *Cursoria* ou encore *Periplaneta orientalis*. Cet animal a été très profondément étudié par nous au point de vue qui nous occupe, à cause de ses particularités et de ce que l'on peut se le procurer à toute période de l'année. D'ailleurs, cet animal a été très bien étudié par d'autres chercheurs à d'autres points de vue, ce qui fait que sa physiologie est bien connue.

Nos recherches ont porté sur trois points : contaminer les voies digestives, les voies respiratoires et la cavité générale, voir les réactions qui se produisent et débrouiller le mécanisme de la résistance, si elle existe. Nos agents de contamination appartiennent aux microbes et aux parasites. Nous avons isolé quelques espèces microbiennes du tube digestif de cet animal et nous avons aussi expérimenté avec d'autres espèces microbiennes qui, normalement, ne se trouvent pas dans le tube digestif.

I. — Contamination des voies digestives. — La résistance de l'animal aux contaminations différentes. — Le mécanisme de la résistance.

L'origine de nos recherches sur la défense contre la contamination des voies digestives réside dans le fait suivant : nous avons tout d'abord pu nous rendre compte (ce qui était forcé) de l'existence de microbes et autres parasites dans l'intérieur du tube digestif des blattes. Après avoir constaté la présence de nombreuses espèces microbiennes et de plusieurs levures se différenciant par des colorations différentes, nous avons pensé que les voies digestives des blattes présentaient une voie défensive des plus importantes, car, lorsque l'on inocule directement dans la cavité générale ces microbes, les blattes ne présentent aucune résistance. Pour approfondir ce problème d'une si grande importance, nous avons choisi, outre certains des microbes que l'on trouve normalement dans les voies digestives, d'autres qui en sont absents. Connaissant l'habitat des blattes, on peut supposer *à priori* qu'elles doivent être bien défendues pour résister à des contaminations quotidiennes, quelquefois par des microbes très virulents.

Nos agents de contamination ont été : le b. d'Eberth, le colibacille, le b. pyocyanique, le microbe A trouvé dans le tube digestif d'un de nos insectes et le bacille 2 T. D. B., autre bacille trouvé dans ce tube digestif.

I. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le microbe A.*

EXPÉRIENCE I. — On installe plusieurs blattes dans un cristalliseur en leur donnant à manger une nourriture (feuilles de salade) souillée avec une culture du microbe A., en bouillon liquide, jeune et virulente. Elle tue les insectes quand elle est introduite dans la cavité générale.

Le jour de l'expérience, on ne constate rien qui puisse nous faire croire que les blattes supportent mal cette nourriture. Trois jours après, rien d'anormal. Deux semaines après, rien à noter. Dix-huit jours après, on constate qu'une des blattes est morte, les autres sont bien portantes. Trois semaines après, les blattes sont toujours bien vivantes.

EXPÉRIENCE II. — On réinstalle des blattes gardées préalablement dans le laboratoire pendant deux jours pour nous rendre compte de leur vitalité en leur donnant de la nourriture souillée par les microbes A. Trois semaines après toutes les blattes sont vivantes.

EXPÉRIENCE III. — On installe plusieurs blattes dans un cristalliseur contenant des feuilles de salade souillées par des cultures du microbe A en quantité colossale. Les blattes en mangent sans répugnance. Dans l'après-midi du même jour, on ne constate rien d'anormal. Dix jours après, toutes les blattes sont vivantes. Trois semaines après, toutes les blattes se portent très bien.

Pour nous assurer de la contamination réelle, nous avons procédé de la même façon qu'avec le bacille d'Eberth :

EXPÉRIENCE I. — On prend plusieurs blattes, leur face ventrale en haut, et on dépose dans la cavité buccale des gouttes de cultures microbiennes A. On voit disparaître les gouttes déposées : donc la contamination est réalisée. On arrose aussi leur nourriture par les mêmes microbes.

Quelques jours après l'expérience, toutes les blattes sont vivantes. Quinze jours après, on constate qu'une des blattes est morte, mais les autres sont bien portantes. Trois semaines après, toutes les blattes sont vivantes.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus en employant le même procédé. Quelques jours après, en examinant les blattes, on trouve une malade, marchant très difficilement, mais les autres sont bien portantes. Le lendemain, on la trouve morte, mais les autres sont toujours bien portantes.

Trois semaines après, toutes les blattes sont vivantes et ne présentent aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE III. — On dépose chez plusieurs blattes des gouttes des cultures microbiennes A sur leur cavité buccale. On voit disparaître les gouttes dans l'intérieur du tube digestif. On verse dans le cristalliseur de la culture A en telle quantité que les blattes nagent dans le liquide. Donc les animaux n'ont à leur disposition que de la culture microbienne A.

Le jour où l'expérience a été effectuée, les blattes ne présentent rien d'anormal. Quelques jours après, toutes les blattes sont vivantes. Trois semaines après, rien d'anormal.

De toutes ces expériences, la conclusion générale est la suivante : Le Periplaneta orientalis possède une résistance remarquable contre le microbe A, lorsqu'il est ingéré par cet animal.

2. — MOYEN DE CONTAMINATION : le bacille d'Eberth.

EXPÉRIENCE I. — On installe dans des cristallisoirs des blattes qui sont restées pendant deux ou trois jours au laboratoire pour nous rendre compte de leur vitalité : on leur donne à manger une nourriture souillée avec une culture très virulente du bacille d'Eberth, jeune de 48 heures, en bouillon liquide. Les blattes mangent très bien cette nourriture, ce qui prouve qu'elle ne leur est pas répugnante.

Le même jour, examinées dans l'après-midi, les blattes ne présentent rien d'anormal. On réajoute de la culture d'Eberth.

Le lendemain, les blattes sont bien vivantes. Trois jours après, elles ne présentent rien d'anormal. Trois semaines après, elles sont toujours bien vivantes.

EXPÉRIENCE II. — On installe des blattes dans des cristallisoirs (les blattes toujours laissées d'abord dans le laboratoire pour nous rendre compte de leur vitalité), en souillant leur nourriture avec des cultures microbiennes eberthiennes en bouillon liquide. Les blattes mangent et ne paraissent pas incommodées.

Le même jour rien d'anormal. Tous les animaux supportent très bien cette contamination. Aucune paralysie des pattes. Le lendemain, rien d'anormal. Trois jours après, on constate qu'il y a une blatte morte. Trois semaines après, les blattes restantes sont vivantes, ne présentant aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE III. — On installe des blattes toujours dans les mêmes conditions, en leur donnant de la nourriture souillée avec des cultures éberthiennes virulentes.

Vingt-cinq jours après l'expérience, une seule blatte est morte, les autres sont vivantes et ne présentent rien d'anormal.

Pour être assuré de la contamination certaine, nous avons effectué les expériences suivantes :

EXPÉRIENCE I. — On prend plusieurs blattes en les tenant la face ventrale en haut : on dépose des gouttes de culture éberthienne sur la cavité

buccale. On voit disparaître sous nos yeux les gouttes ainsi déposées : donc la contamination est certaine. On souille aussi leur nourriture avec la culture éberthienne.

Le même jour, les animaux ne présentent rien d'anormal. Deux jours après, les blattes sont vivantes. Cinq jours après, les animaux sont vivants. Dix jours après, les blattes sont vivantes. Vingt-cinq jours après, rien d'anormal chez les blattes.

EXPÉRIENCE II. — On installe des blattes dans des cristallisoirs où on ne verse que de la culture microbienne éberthienne, jeune et virulente, en bouillon liquide. Donc, dans cette expérience, les animaux n'ont à leur disposition que de la culture microbienne. On remarque que les blattes mangent cette nourriture sans répugnance.

Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Quelques jours après, les animaux sont bien portants. Quinze jours après, on constate qu'une des blattes est morte et les autres ne paraissent pas malades. Vingt jours après, toutes les blattes sont vivantes. Nous remarquons que tous les jours on ne donnait que de la culture microbienne.

EXPÉRIENCE III. — On réinstalle des blattes dans les mêmes conditions que ci-dessus, c'est-à-dire en ne leur donnant que de la culture en bouillon liquide, non diluée, virulente.

Rien d'anormal pendant tout le temps d'observation (trois semaines).

Toutes ces expériences démontrent d'une façon certaine l'extraordinaire résistance des Periplaneta orientalis vis-à-vis du bacille d'Eberth, lorsque ce microbe est introduit dans le tube digestif de ces animaux.

3. — MOYEN DE CONTAMINATION : le colibacille.

EXPÉRIENCE I. — On place plusieurs blattes dans des cristallisoirs (les blattes étaient gardées pendant deux jours pour s'assurer de leur vitalité), en leur donnant à manger une nourriture souillée par des cultures microbiennes de colibacille, culture jeune de 24 heures, virulente, en bouillon liquide. Les animaux ne présentent rien d'anormal, ils mangent comme si leur nourriture était normale.

Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Quelques jours après, on constate une blatte morte, les autres bien portantes.

Trois semaines après, toutes les blattes sont vivantes et ne présentent rien d'anormal.

EXPÉRIENCE II. — On prend plusieurs blattes en leur donnant à manger

des feuilles de salade contaminées par les cultures microbiennes colibacillaires jeunes de 48 heures, en bouillon liquide. Les blattes en mangent avec beaucoup d'appétit.

Le même jour d'expérience, rien d'anormal.

Quelques jours après, toutes les blattes sont bien portantes et un mois après on constate qu'une blatte est morte, mais les autres se portent très bien.

EXPÉRIENCE III. — On installe des blattes dans un cristallisoir, en leur donnant une nourriture souillée d'une façon exagérée avec les cultures microbiennes colibacillaires, jeunes, non diluées, en bouillon liquide. Les blattes mangent sans répugnance, comme si les feuilles de salade étaient normales. On renouvelle ces feuilles en les mouillant toujours avec des cultures microbiennes.

L'observation a duré presque un mois, les blattes n'ont jamais présenté un phénomène morbide.

Pour nous assurer de la contamination certaine et massive, nous avons effectué plusieurs expériences dans des conditions spéciales. Ce sont les expériences suivantes :

EXPÉRIENCE I. — Nous prenons plusieurs blattes. On les place dans une position telle que la face ventrale regarde en haut. On dépose des gouttes de la culture colibacillaire en bouillon liquide, âgée de 24 heures, sur la cavité buccale. On voit disparaître les gouttes dans l'intérieur du tube digestif et par conséquent la contamination est certaine. On souille la nourriture avec la culture colibacillaire.

Le jour de l'expérience, on ne constate aucun phénomène morbide chez les animaux en expérience. Quelques jours après, on ne constate rien d'anormal. Un mois après, toutes les blattes sont vivantes, elles ne présentent aucun phénomène particulier qui pourrait nous donner des doutes sur la vitalité normale des animaux en expérience.

EXPÉRIENCE II. — On place des blattes dans des cristallisoirs contenant des cultures microbiennes colibacillaires servant de nourriture exclusive à ces animaux. Les blattes en mangent sans répugnance. Le lendemain, on constate qu'une blatte est morte. Une semaine après, on ne constate rien d'anormal. Trois semaines après, les blattes sont toutes bien portantes, aucun phénomène morbide. Un mois après, toutes les blattes sont vivantes.

EXPÉRIENCE III. — La même expérience que ci-dessus ; on donne tous les jours rien que de la culture colibacillaire pendant un mois. Aucun animal n'est mort pendant tout ce long temps d'observation quotidienne.

*Donc, les *Periplaneta orientalis* possèdent une résistance remar-*

quable contre le colibacille, lorsque celui-ci est ingéré par ces animaux.

4. — MOYEN DE CONTAMINATION : le bacille pyocyanique.

EXPÉRIENCE I. — On prend plusieurs blattes, on les place dans des cristallisoirs spéciaux. On donne une nourriture (feuilles de salade) souillée par des cultures du bacille pyocyanique, jeune et virulente, en bouillon liquide. Les blattes en mangent sans répugnance.

Le jour de l'expérience, rien d'anormal. Le lendemain, toutes les blattes sont vivantes. Trois jours après, une des blattes est morte, les autres sont bien portantes. Deux semaines après, les blattes sont vivantes. Trois semaines après, aucun phénomène anormal.

EXPÉRIENCE II. — On prend plusieurs blattes bien vigoureuses, on leur donne une nourriture souillée par la culture du bacille pyocyanique. Les blattes en mangent sans répugnance.

Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Deux jours après toutes les blattes sont vivantes. Trois semaines après toutes les blattes sont vivantes.

EXPÉRIENCE III. — A plusieurs blattes on donne une nourriture (feuilles de salade) souillée par des cultures microbiennes du pyocyanique en bouillon liquide, en quantité telle que les feuilles trempent complètement dans le liquide. Les blattes sont bien vigoureuses, elles mangent comme si les feuilles étaient normales.

Le jour de l'expérience, rien d'anormal. Quelques jours après, toutes les blattes sont vivantes. Quinze jours après, il y a une blatte morte, les autres sont bien portantes. On réajoute de la culture microbienne. Toujours les blattes supportent admirablement cette nourriture.

Pour nous assurer de la contamination certaine, nous avons réalisé, comme ailleurs, des expériences plus démonstratives. Les résultats sont identiques comme le démontrent les expériences suivantes :

EXPÉRIENCE I. — On prend plusieurs blattes, on les dispose de telle façon que l'on puisse déposer des gouttes d'une culture du bacille pyocyanique sur leur bouche : on voit disparaître les gouttes sous nos yeux dans l'intérieur du tube digestif, donc la contamination est certaine et massive. Les blattes mangent toujours leurs feuilles de salade souillées de pyocyanique.

Le jour de l'expérience les blattes supportent très bien cette contamination. Quelques jours après toutes sont vivantes. Trois semaines après aucun animal en expérience n'est malade, ils ne présentent aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE II. — A plusieurs blattes on dépose sur leur cavité buccale des gouttes d'une culture du bacille pyocyanique. On souille les aliments, que l'on renouvelle souvent, par la culture microbienne. Les blattes supportent très bien cette contamination.

Le jour de l'expérience, aucune blatte n'est malade, toutes sont vigoureuses. Plusieurs jours après on remarque une blatte malade et une autre qui est morte, les autres sont bien portantes. Le lendemain, la blatte malade est morte, les autres sont bien portantes. Toutes les blattes sont vivantes au bout de 3 semaines.

EXPÉRIENCE III. — On ne donne que de la culture microbienne jeune et virulente (24-48 heures) de bouillon liquide du bacille pyocyanique à des blattes, lesquelles ont été déjà infectées par cette même culture. Les blattes nagent pour ainsi dire dans les cultures. Pendant tout le temps d'observation, les blattes n'ont rien présenté d'anormal malgré qu'elles aient vécu dans un milieu si dangereux.

*Comme ces expériences le démontrent, les *Periplaneta orientalis* supportent admirablement l'introduction dans les voies digestives du bacille pyocyanique, ce qui concorde avec les résultats obtenus avec d'autres microbes expérimentés dans ces conditions.*

5. — MOYEN DE CONTAMINATION : le bacille 2 T. D. B.

EXPÉRIENCE I. — On donne à plusieurs blattes préalablement laissées dans le laboratoire pendant deux jours pour se rendre compte de leur vitalité, de la culture microbienne 2 T. D. B. en bouillon liquide mélangée avec les feuilles de salade servant de nourriture aux blattes. Le jour de l'expérience, les blattes sont vivantes et ne présentent rien d'anormal. Quelques jours après toutes les blattes sont vivantes et trois semaines après on ne constate aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE II. — On donne à plusieurs blattes des feuilles de salade contaminées par les cultures microbiennes 2. Les blattes en mangent sans répugnance. On renouvelle souvent les feuilles pour les remplacer avec des fraîches, mais en les trempant toujours dans la culture 2. Le jour de l'expérience, rien d'anormal. Quelques jours après toutes les blattes sont vivantes. Trois semaines après, rien de particulier, les blattes sont vivantes.

EXPÉRIENCE III. — On trempe des feuilles de salade dans les cultures microbiennes 2. Ces feuilles servent de nourriture aux blattes. Quinze jours après toutes les blattes sont vivantes.

Toujours pour nous assurer de la contamination, nous avons effectué quelques expériences, comme nous l'avons fait pour les autres espèces microbiennes.

EXPÉRIENCE I. — On prend plusieurs blattes. On dépose des gouttes de culture 2 sur leur cavité buccale : les gouttes disparaissent dans l'intérieur du tube digestif. On infecte leur nourriture avec les cultures 2. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Cinq jours après, toutes les blattes sont vivantes. Deux semaines après, aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE II. — A plusieurs blattes on dépose sur la cavité buccale des gouttes de cultures microbiennes 2. En même temps on verse dans le cristalliseur où les bêtes seront placées, de cette même culture. Les blattes en mangent sans répugnance. Quinze jours et même 3 semaines après, les blattes sont vivantes.

EXPÉRIENCE III. — On fait la même expérience que ci-dessus. La culture microbienne seule sert de nourriture. Rien de particulier pendant trois semaines d'observation.

Donc les blattes présentent une résistance particulière contre le bacille 2 ingéré par ces animaux.

Par toutes ces recherches, on démontre d'une façon mathématique que les blattes possèdent des moyens de défense de la part du tube digestif d'une extraordinaire efficacité puisque, comme il résulte des expériences effectuées malgré la contamination massive, les blattes supportent admirablement cette contamination. Donc immunité certaine dont le mécanisme reste à étudier.

On a remarqué que de temps en temps dans nos expériences on a eu des cas de mort. Pourquoi ces morts ? Voilà une question que nous nous sommes posée très souvent. L'examen très attentif et suivi, nous a expliqué la mort survenue dans certains cas d'expérience. A l'examen de ces blattes mortes, on relève *toujours* des lésions déterminées par des traumatismes plus ou moins graves. On remarque

qu'une ou plusieurs pattes sont coupées ou bien les ailes casées, ou encore on rencontre des blattes qui présentent un renversement d'un des anneaux et, par ces plaies ainsi produites, la contamination du milieu intérieur est certaine et la mort est le résultat. D'ailleurs l'expérience suivante démontre que l'hypothèse émise est justifiée.

EXPÉRIENCE I. — On donne une nourriture contaminée par une culture du bacille pyocyanique à quelques blattes blessées (les pattes coupées). On renouvelle cette nourriture, on l'infecte toujours avec la culture du bacille pyocyanique. Le jour de l'expérience, les blattes sont vivantes. Deux jours après elles sont toujours vivantes. Le troisième jour, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — A deux blattes blessées on donne une nourriture infectée par les cultures du bacille d'Eberth. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien de particulier. Deux jours après, elles sont vivantes, mais le troisième jour elles sont mortes.

En analysant toutes ces expériences, on pourrait se demander si les microbes qui sont ingérés en si grande quantité avec la nourriture de l'animal, et avec plus de raison chez l'animal qui n'a comme nourriture que la culture microbienne, traversent les parois digestives et si, pendant la période digestive, il y a passage des microbes dans la circulation générale. On connaît les expériences de Nicolas et Descos (1902) qui ont constaté la présence du bacille de Koch dans le chyle du chien ayant digéré des cultures. Pour résoudre le problème chez notre animal, il est facile d'instituer des expériences permettant de se rendre compte de la vérité. Donc, il s'agit de savoir si les microbes ingérés par les blattes traversent les parois intestinales de dehors (cavité digestive) en dedans (cavité générale).

EXPÉRIENCE I. — On installe des blattes dans un cristalliseur spécial, on leur donne une nourriture infectée par des cultures du bacille pyocyanique. Les blattes sont ainsi nourries pendant une période de huit jours. On prélève dans la cavité générale un peu de liquide et on l'ensemence dans un tube contenant du bouillon liquide ordinaire et un autre du bouillon

solidifié gélatiné. Le lendemain, les cultures n'ont pas poussé. Deux jours après, toujours aucun développement microbien, ainsi que six jours après.

EXPÉRIENCE II. — On installe quelques blattes dans un cristalliseur spécial. La nourriture est infectée par le bacille pyocyanique. Le sixième jour, on prélève dans la cavité générale un peu de liquide et un morceau d'organe. On les enseme dans un tube à bouillon liquide ordinaire. Le lendemain, les cultures ne présentent aucun développement. Le sixième jour, les cultures sont négatives.

EXPÉRIENCE III. — On installe plusieurs blattes en leur donnant une nourriture infectée par des colibacilles. On les nourrit ainsi pendant une période de dix jours. On prélève ensuite dans la cavité générale un peu de liquide et on l'ensemence dans un tube contenant du bouillon au rouge neutre. La culture est négative, aucun virage au jaune canari, pas de fluorescence.

EXPÉRIENCE IV. — La même nourriture que ci-dessus. L'expérience dure une semaine. On prélève dans la cavité générale un peu de liquide et un morceau d'organe et on les enseme dans un tube de bouillon au rouge neutre. La culture est négative, pas de virage, pas de fluorescence.

Donc, il résulte de ces expériences qu'on ne peut déceler la présence du bacille pyocyanique et du colibacille dans la cavité générale des blattes qui ont été nourries avec ces microbes. Il n'y a pas de passage de microbe de dehors en dedans. Pour serrer de plus près le problème, on s'est demandé si pendant la période digestive il y a le passage des microbes dans la cavité générale.

EXPÉRIENCE I. — On installe plusieurs blattes. On donne une nourriture infectée par une culture colibacillaire, virulente (l'expérience a été faite à 10 heures du matin). On prélève un peu de liquide dans la cavité générale à 4 heures de l'après-midi, c'est-à-dire six heures après la contamination du tube digestif. On l'ensemence dans un tube de bouillon au rouge neutre. La culture reste négative, pas de virage, pas de fluorescence.

EXPÉRIENCE II. — On prélève au bout de 24 heures dans la cavité générale de blattes nourries avec des cultures colibacillaires, un peu de liquide cavitaire et un morceau d'organe. On les enseme dans un tube de bouillon au rouge neutre. La culture est négative, aucun développement microbien, pas de virage, pas de fluorescence.

EXPÉRIENCE III. — On installe des blattes dans un cristalliseur, on les nourrit avec une culture du bacille pyocyanique. On prélève 6 heures après la contamination, un peu de liquide cavitaire en raclant la paroi externe

du tube digestif. On l'ensemence dans un tube de bouillon ordinaire. La culture est négative, pas de fluorescence verte, aucun développement microbien.

EXPÉRIENCE IV. — On prélève au bout de 24 heures un peu de liquide cavitare et un morceau d'organe. On les ensemence. Les cultures restent négatives pendant plusieurs jours.

D'autres expériences sont effectuées dans les mêmes conditions, toujours les résultats sont identiques aux premiers.

Donc, pendant la période digestive, il n'y a pas de passage des microbes du tube digestif dans la cavité générale.

Le mécanisme de la résistance. — Avant d'entrer dans le vif du sujet, nous allons donner quelques renseignements nécessaires sur le tube digestif de la blatte (fig. 2). Au point de vue anatomique, le tube digestif de la blatte est constitué par l'œsophage dans lequel viennent se déverser les glandes salivaires. A l'œsophage fait suite le jabot auquel succède le ventricule chylique avec ses cœcums ou glandes gastriques. Successivement, nous avons après l'intestin, puis le rectum dans lequel viennent aboutir les tubes de Malpighi. Au point de vue physiologique, on divise généralement le tube digestif en trois portions : l'intestin antérieur comprenant l'œsophage et le jabot, l'intestin moyen comprenant le ventricule chylique avec ses glandes gastriques et la partie antérieure de l'intestin proprement dit, et enfin l'intestin postérieur comprenant le rectum. Au point de vue de structure fine, l'histologie nous montre que seul l'intestin moyen n'a pas de revêtement cuticulaire. Il est facile de concevoir au point de vue physiologique que la digestion et l'absorption peuvent être réalisées seulement là où il y a une sécrétion et où la structure histologique montre la possibilité d'absorption. En effet, il n'y a que l'intestin moyen qui est chargé de ce travail. Le ventricule chylique (souvent appelé l'estomac) et

les cœcums gastriques qui lui sont annexés et qui ne sont en somme que des diverticules sans spécialisation de la muqueuse, sont à la fois le siège d'une sécrétion analogue à

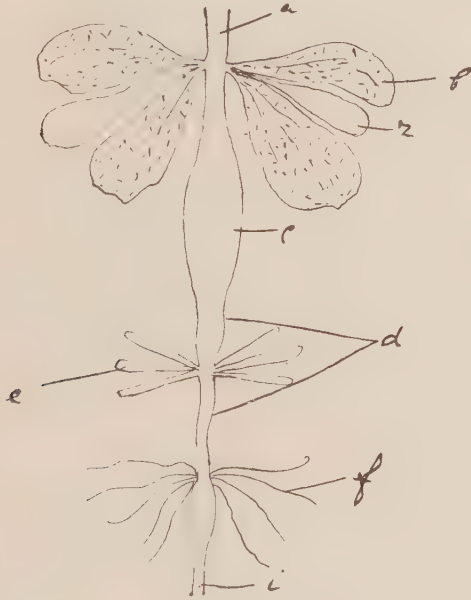


Fig. 2. — Tube digestif de *Periplaneta orientalis* : *a* œsophage; *b* glandes salivaires; *r* réservoir des glandes salivaires; *c* jabot; *d* ventricule chylique (estomac); *e* cœcums gastriques; *f* tubes de Malpighi; *i* rectum.

celle du suc pancréatique et le siège de l'absorption. Ce suc gastro-intestinal a une fonction assez comparable à celle du suc pancréatique et agit à la fois sur les substances albuminoïdes, les substances amylacées et les graisses.

Quel est le sort des microbes et de leurs toxines? Voilà la clé du mécanisme de la résistance des blattes. Dans la partie antérieure et dans la partie postérieure du tube digestif, l'épithélium étant pourvu d'un revêtement cuticulaire, il n'y a pas de contact direct pour ainsi dire entre le milieu intérieur et les microbes, car là il n'y a aucune absorption.

La partie absorbante, par conséquent celle qui n'est pas protégée par l'épithélium chitineux, est plus intéressante pour nous, puisque c'est là que les microbes sont en contact direct avec l'épithélium absorbant et c'est là que le conflit pourrait avoir lieu entre les microbes et leurs toxines d'une part, et l'organisme d'autre part.

Formulons quelques hypothèses : N'est-ce pas là l'origine de toute recherche scientifique ? D'une hypothèse à une autre, nous arriverons peut-être à surprendre la vérité. Tout d'abord, s'agit-il tout simplement d'un arrêt des microbes et de leurs toxines par l'épithélium intestinal, c'est-à-dire s'agit-il d'une *barrière mécanique* ? Dans ce cas, il n'y aurait pas d'englobement microbien par les cellules épithéliales, ni de destruction par des phagocytes émigrés, mais les microbes se contenteraient de parcourir la filière intestinale. On peut supposer aussi que les microbes sont détruits par l'épithélium intestinal ou par le tissu sous-épithélial et que c'est pour cela que l'animal résiste admirablement à la contamination massive. Enfin, une troisième hypothèse : ce sont les liquides intestinaux qui détruisent les microbes. On peut soumettre toutes ces hypothèses à une expérimentation rigoureuse et retenir celle qui est vraie. Il est impossible d'obtenir une assez grande quantité de liquide digestif pour expérimenter *in vitro* avec lui. C'est là une très grosse difficulté pour répondre à une des hypothèses émises.

Mais le problème est bien plus difficile pour les toxines microbiennes. En effet, que deviennent-elles ? Sont-elles absorbées en même temps que d'autres produits assimilables, mais neutralisées par les sucs digestifs et ainsi rendues inoffensives ? Nous tâcherons de répondre en nous appuyant sur l'expérimentation.

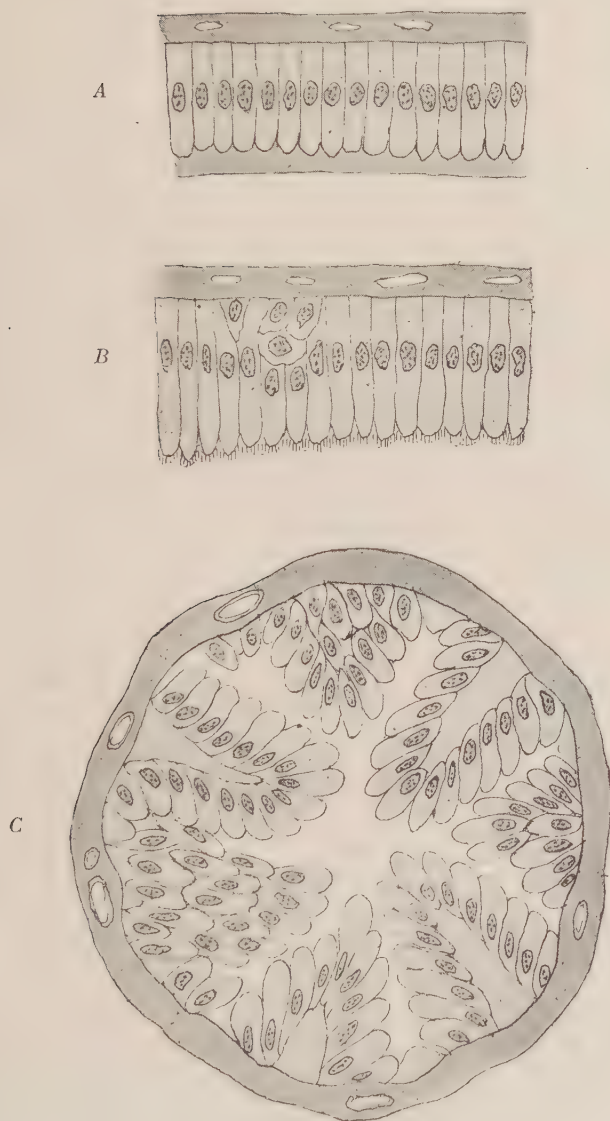


Fig. 3 (coloration thionine). — A Intestin antérieur : cellules à cuticule chitineuse. B Intestin moyen : cellules absorbantes. C Les coccums (*Periplaneta orientalis*).

Voyons d'abord ce que deviennent les microbes. Y a-t-il destruction des microbes par l'épithélium intestinal (intestin moyen) ou par les cœcums glandulaires ?

EXPÉRIENCE I. — On installe quelques blattes dans un cristalliseur et on leur donne une nourriture exclusivement composée des cultures microbiennes colibacillaires, jeunes de 24 heures, en bouillon liquide. Tous les jours on nourrit ces animaux avec des cultures colibacillaires. Le troisième jour on prélève l'intestin moyen et on le met dans le liquide fixateur.

En analysant très attentivement la coupe on remarque : *l'absence complète des microbes dans les cellules épithéliales, l'absence complète des microbes dans les interstices cellulaires, l'absence complète des microbes dans le tissu conjonctif sous épithélial et pas de phagocytes émigrés pour détruire les microbes.* — L'examen de toutes les coupes réalisées dans les mêmes conditions expérimentales nous donne les mêmes résultats. On pourrait nous objecter que les microbes sont complètement détruits et que c'est pour cela que l'on ne trouve pas de microbes dans l'intérieur des cellules. Or, les animaux en expérience étaient en état permanent de contamination et, par conséquent, au moment du prélèvement de l'intestin moyen, s'il y avait eu absorption des microbes nous les aurions surpris par le liquide fixateur. D'ailleurs certaines coupes qu'il est inutile de figurer nous montrent dans l'intérieur de la lumière de l'intestin moyen des microbes qui ont été fixés en même temps que l'intestin lui-même avec ses débris alimentaires. *Nous concluons donc que ce n'est pas l'épithélium intestinal qui absorbe et détruit les microbes, pas plus que le tissu conjonctif sous-épithélial* (fig. 3).

EXPÉRIENCE II. — On installe plusieurs blattes et on leur donne comme nourriture de la culture de bacille pyocyanique jeune et en bouillon liquide. Cette nourriture exclusivement microbienne est donnée pendant trois jours et au bout de ce temps, les animaux sont sacrifiés. On prélève les intestins moyens et on les met dans le liquide fixateur.

L'examen des coupes nous donne les mêmes résultats. Donc *absence de destruction des microbes par les tissus de l'intestin moyen*. Il est inutile de donner des figures puisque les résultats sont identiques aux précédents.

S'agit-il d'une destruction des microbes et des toxines par les sucs digestifs ? Directement : *in vitro*, il n'est pas possible de faire des expériences avec les sucs digestifs car on ne peut obtenir une quantité suffisante de liquide même en sacrifiant un très grand nombre d'animaux. Par contre, indirectement, nous démontrons l'action effective des sucs digestifs par les faits suivants :

1. — Les blattes nourries avec des cultures microbiennes ingèrent en même temps que les microbes vivants, les toxines sécrétées par eux. Or, les toxines inoculées directement dans la cavité générale déterminent la mort des animaux. Donc, les toxines sont absorbées sous une forme spéciale rendue inoffensive soit par neutralisation, soit par destruction.

2. — Les blattes nourries avec des endotoxines présentent la même résistance, ce qui prouve que les sucs digestifs neutralisent ou détruisent les endotoxines des microbes expérimentés par nous.

II. — Contamination des voies respiratoires. La résistance des animaux contaminés. Le mécanisme de cette résistance.

En continuant nos recherches, nous avons pensé qu'il serait intéressant de savoir si les blattes possèdent la même résistance contre les microbes lorsque ceux-ci sont mis en contact avec les voies respiratoires. L'origine de ces

recherches réside dans ce fait qu'on a été frappé par la résistance extraordinaire des blattes baignant dans des cultures microbiennes virulentes. Nous ne connaissons pas de chercheurs qui aient tenté l'immunisation par les voies respiratoires. Nous sommes donc les premiers à avoir eu l'idée de rechercher l'immunisation par ce moyen, en même temps que la résistance que ces voies pouvaient opposer à la contamination.

Les agents de contamination étaient : le bacille pyocyanique, le colibacille, le bacille A, le bacille d'Eberth et le bacille de la culture 2.

1. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyanique.*

EXPÉRIENCE I. — On badigeonne plusieurs blattes avec une culture du bacille pyocyanique (culture jeune et virulente), on contamine surtout les stigmates. Pendant plusieurs jours, on fait la même contamination de ces stigmates. Les animaux en expérience ne présentent aucun phénomène morbide pendant un mois qu'a duré l'observation.

EXPÉRIENCE II. — On badigeonne plusieurs blattes avec une culture de bacille pyocyanique. On place aussi plusieurs blattes dans un flacon à vide dans lequel on a versé une certaine quantité de la culture du bacille pyocyanique. On fait le vide. Par le mécanisme que nous avons expliqué, la contamination des voies respiratoires est réalisée d'une façon certaine. Après cette opération, les blattes sont laissées dans un cristalliseur, avec une nourriture normale. Le jour de l'expérience, toutes les blattes sont vivantes et ne présentent aucun phénomène morbide. Au bout de trois semaines, les blattes sont vivantes.

EXPÉRIENCE III. — On fait la même expérience que ci-dessus, mais les blattes étaient déjà plusieurs jours auparavant infectées par le badigeonnage. L'observation a duré plus de trois semaines, les blattes sont restées vivantes.

EXPÉRIENCE IV. — On soumet plusieurs blattes à la contamination des voies respiratoires par le procédé ci-dessus. On fait aussi, après deux semaines, la même expérience pour la deuxième fois sur les mêmes animaux avec le même microbe.

Enfin la même expérience est effectuée pour la troisième fois une semaine après la deuxième contamination. Aucune blatte n'est morte pendant trois semaines qu'a duré l'observation.

Nous pouvons conclure d'une façon certaine : *les blattes contaminées par les voies respiratoires par le bacille pyocyannique possèdent une résistance remarquable.*

2. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On badigeonne plusieurs blattes avec des colibacilles (culture jeune de 24 heures et virulente) pendant quelques jours. La nourriture est normale. Les blattes supportent très bien cette contamination. Au bout d'un mois elles sont vivantes.

EXPÉRIENCE II. — On badigeonne plusieurs blattes avec une culture colibacillaire. On soumet ces blattes dans un flacon à vide à une pression très basse, et par le mécanisme que nous avons expliqué, les voies respiratoires sont mises en contact intime avec la culture colibacillaire versée dans le flacon où on a fait le vide. Le jour de l'expérience, les animaux ne présentent aucun phénomène morbide. Quelques jours après, ils sont vivants.

EXPÉRIENCE III. — On fait la même expérience que ci-dessus. Au bout d'un mois, les blattes ne présentent aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE IV. — On badigeonne plusieurs blattes avec une culture colibacillaire. On les place dans un flacon à vide où on a déjà versé une certaine quantité de culture. On fait le vide. Au bout de deux semaines, on fait la même expérience sur les mêmes animaux ; enfin, pour la troisième fois, la contamination est réalisée une semaine après la deuxième expérience. Quinze jours après la dernière contamination, les blattes sont vivantes.

Donc, les blattes dont les voies respiratoires sont contaminées par les colibacilles possèdent une résistance particulière contre ces microbes.

3. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le bacille d'Eberth.*

EXPÉRIENCE I. — On badigeonne avec une culture éberthienne, jeune et virulente, plusieurs blattes, en déposant plus particulièrement des gouttes

sur les stigmates respiratoires. La nourriture est normale. Les blattes sont vivantes et ne présentent rien d'anormal, même au bout de trois semaines.

EXPÉRIENCE II. — On badigeonne quelques blattes avec une culture éberthienne très virulente. On place ces blattes dans un flacon où on a déposé une certaine quantité de la culture d'Eberth et on fait le vide. Après l'opération les blattes sont laissées dans un cristalliseur avec une nourriture normale. Deux semaines après, toutes les blattes sont vivantes.

EXPÉRIENCE III. — On soumet les blattes badigeonnées avec une culture éberthienne à une pression très basse. Dans le flacon servant à l'opération on a versé une quantité de cette culture. On fait le vide. Les blattes se contaminent. Après l'opération, les blattes laissées à vivre normalement n'ont présenté aucun trouble morbide.

EXPÉRIENCE IV. — On contamine les voies respiratoires des blattes pendant un mois par le procédé ci-dessus, à plusieurs reprises. Pendant tout ce temps d'expérimentation, les blattes n'ont présenté aucun trouble morbide. Les animaux sont vivants un mois après la dernière contamination.

Donc, les blattes dont les voies respiratoires sont contaminées par une culture éberthienne jeune et virulente possèdent une résistance remarquable contre cette culture.

4. — MOYEN DE CONTAMINATION : *microbe A.*

EXPÉRIENCE I. — On badigeonne des blattes avec une culture microbienne A reconnue virulente quand elle est introduite dans la cavité générale. A plusieurs blattes, on dépose des gouttes surtout sur les stigmates. La nourriture est normale. La contamination est réalisée tous les jours de la même façon. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Au bout de quelques jours, elles sont toujours bien vivantes.

EXPÉRIENCE II. — On prend plusieurs blattes ; on les place dans un flacon à vide. On badigeonne les blattes avec la culture A. On verse dans le flacon de cette culture et on fait le vide ; la contamination est réalisée. On replace les blattes dans un cristalliseur normal et on donne une nourriture ordinaire. Au bout de trois semaines les blattes sont vivantes.

EXPÉRIENCE III. — On badigeonne plusieurs blattes avec la culture A. On les place dans un flacon à vide où on a versé la culture microbienne A. On fait le vide, la contamination est réalisée. Au bout d'une semaine on répète l'expérience sur les mêmes animaux avec la même culture. Une semaine après, on fait pour la troisième fois cette contamination par le même procédé. Pendant tout ce temps d'expérimentation, les animaux ne présen-

tent rien d'anormal. Au bout de trois semaines après la dernière contamination, les blattes n'ont présenté aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE IV. — On badigeonne plusieurs blattes avec la culture A. On les place dans un flacon à vide où on a versé de la culture microbienne A. On fait le vide, donc la contamination est réalisée. On fait une seconde contamination le dixième jour et une troisième au bout de trois semaines. La nourriture est normale. Pendant tout ce temps d'expérimentation les blattes résistent admirablement et ne présentent aucun phénomène morbide. Un mois après les blattes sont vivantes.

Ces expériences prouvent l'extraordinaire résistance des blattes contre la culture A lorsque celle-ci est en contact direct avec les voies respiratoires de ces animaux. Ces résultats concordent avec ceux obtenus avec d'autres microbes.

5. — MOYEN DE CONTAMINATION : la culture 2 T. D. B.

EXPÉRIENCE I. — On badigeonne avec la culture 2 en bouillon liquide plusieurs blattes : on dépose des gouttes surtout sur les stigmates. On fait la même contamination tous les jours pendant une semaine. Les blattes résistent très bien à cette contamination. L'observation a duré un mois, toutes les blattes sont restées vivantes.

EXPÉRIENCE II. — On badigeonne plusieurs blattes avec de la culture 2. On dépose des gouttes surtout sur les stigmates. On les place dans un flacon à vide où on a versé une quantité de la culture 2 T. D. B. On fait le vide, la contamination est réalisée. On replace les blattes dans un cristalliseur et on leur donne une nourriture normale. Toutes les blattes résistent très bien pendant longtemps, puisque les blattes restent vivantes un mois et plus après la contamination.

EXPÉRIENCE III. — On fait les mêmes expériences que ci-dessus. On fait la seconde contamination sur les mêmes animaux avec la même culture une semaine après et la troisième contamination deux semaines après. Pendant tout ce temps d'expérimentation, les blattes n'ont présenté aucun phénomène morbide. Un mois après toutes les blattes sont vivantes.

EXPÉRIENCE IV. — On badigeonne plusieurs blattes avec la culture 2 T. D. B. On les place dans un flacon à vide où on a versé de la culture 2 T. D. B. On fait le vide. La contamination est réalisée. On fait la seconde contamination sur les mêmes animaux avec la même culture deux semaines après et enfin la troisième contamination trois semaines après. Les animaux, depuis le début de l'expérimentation, se portent admirablement jusqu'au jour où ils sont sacrifiés (un mois).

Les expériences effectuées à l'aide de la culture 2 T. D. B. donnent les mêmes résultats que toutes les expériences faites avec d'autres microbes, c'est-à-dire la résistance absolue des blattes dont les voies respiratoires sont contaminées par la culture 2 T. D. B.

A la suite de ces résultats très surprenants, nous nous sommes demandé si vraiment il y avait contamination des voies respiratoires par les agents employés, car on sait que chez les animaux supérieurs, à la suite de ces contaminations massives, il y a des accidents très graves.

Les insectes sont des trachéates. Les trachées se ramifient dans tout le corps ; l'air pénètre dans ces trachées par des stigmates. Chaque anneau de l'abdomen des insectes est formé de pièces mobiles qui, en s'écartant ou en se rapprochant les unes des autres, dilatent ou contractent la cavité abdominale. Ces mouvements ont pour conséquence la rentrée ou la sortie de l'air de l'appareil trachéal. La question se pose de la façon la plus simple : y a-t-il des microbes dans les voies respiratoires ?

EXPÉRIENCE I. — On soumet plusieurs blattes à la contamination par le procédé habituel avec une culture de bacille pyocyanique. Le troisième jour, on ouvre largement la cavité générale d'une blatte en passant entre deux anneaux. Ainsi on ouvre l'appareil trachéal disséminé dans tout le corps. On prélève un peu de tissu avec un fil de platine et on l'ensemence dans un tube à bouillon liquide. Au bout de 24 heures, la culture n'est pas nette. Au bout de 48 heures on a une belle fluorescence verte, indice de la présence du bacille pyocyanique.

EXPÉRIENCE II. — On soumet plusieurs blattes à la contamination par le colibacille par le procédé habituel. On ouvre largement la cavité générale et on prélève un peu de liquide et de tissu que l'onensemence dans un tube à bouillon au neutral roth. Le lendemain, la culture n'est pas très démonstrative, mais le surlendemain on a le virage au jaune canari, caractéristique de la présence du colibacille.

Ces deux expériences démontrent la présence des microbes dans les trachées, et il est très important pour nous de savoir que la pénétration se faisait toujours.

Une autre question vient alors à l'esprit : y a-t-il passage des microbes dans la cavité générale ? C'est un problème qu'il est impossible de résoudre d'une façon directe. Etant donné les ramifications trachéales dans tout le corps en faisant l'ouverture de la cavité générale, on ouvre forcément les ramifications et ainsi on est en contact direct avec les microbes, ce qui fausse les résultats.

D'ailleurs, les expériences réalisées pour étudier l'immunité dans la cavité générale de la blatte démontreront d'une façon précise ce que nous allons avancer : *il n'y a pas de passage de microbes des voies respiratoires dans la cavité générale.*

Le mécanisme de la résistance.

Quel est le sort des microbes et de leurs toxines mis en contact direct avec les voies respiratoires ? La connaissance de ce sort est la clé de cette résistance indiscutable. S'agit-il d'une *barrière mécanique* réalisée par l'épithélium respiratoire ? S'agit-il d'une destruction par les cellules épithéliales ou par des phagocytes émigrés ? Lorsqu'on analyse les expériences effectuées, on se rend compte qu'il ne s'agit pas d'une destruction par l'épithélium ni par les phagocytes, puisqu'on décèle les microbes quelques jours après la contamination. Nous avons cherché les microbes mêmes quinze jours après la contamination et avons trouvé toujours les microbes. Si les microbes étaient détruits, nous ne les aurions pas décelés, donc les microbes sont tout simplement arrêtés.

En résumé, *c'est une barrière mécanique réalisée par l'épithélium respiratoire qui est la véritable cause de la résistance.*

En déposant les cultures entières, on déposait aussi des toxines sécrétées par ces cultures. Y a-t-il absorption de

ces toxines ? La réponse est facile : non. Nous démontrerons plus loin que les toxines injectées dans la cavité générale tuent les blattes et par conséquent s'il y avait eu absorption on aurait eu la mort. *Donc, il n'y a pas d'absorption des toxines par l'épithélium respiratoire.*

III. — Contamination de la cavité générale. L'immunité naturelle et l'immunité acquise.

Après avoir constaté que les blattes possèdent une résistance remarquable lorsqu'elles sont contaminées par les voies digestives et les voies respiratoires, il a été rationnel de pousser plus loin ces recherches et de voir si les blattes possèdent une immunité naturelle lorsqu'on injecte au sein de leur organisme des microbes et des toxines. Les microbes et les toxines injectés dans la cavité générale sont en contact intime avec les humeurs et il est facile d'analyser le conflit par l'examen direct du sang. Le liquide cavitaires des blattes ne contient pas normalement de microbes, ni d'autres parasites qui, par leur présence, pourraient faire acquérir aux blattes des substances immunisantes et qui se chargeraient de détruire les microbes et les toxines inoculées. Dans le cas de la résistance, ce ne serait d'ailleurs pas une immunité naturelle, mais acquise, car on admet que l'immunité acquise est spécifique, c'est-à-dire que, si un microbe a provoqué la fabrication des substances immunisantes, ces substances sont capables de détruire seulement le microbe qui a provoqué la fabrication desdites substances. Nous ne voulons pas généraliser, il se peut que chez les blattes l'immunité doive être considérée d'une façon particulière.

L'immunité peut présenter tous les degrés et il y aurait

ainsi, entre la santé et la maladie, tous les intermédiaires. Ordinairement, les contaminations naturelles ne mettent en jeu que des quantités limitées de microbes. Si les réactions de l'organisme infecté sont suffisamment intenses et efficaces, les germes sont condamnés à périr avant d'avoir pu se reproduire. Aucun symptôme ne trahit alors ce conflit, aucun retentissement n'est perçu : l'immunité est absolue. Si la défense tarde, si le virus plus rebelle ne cède qu'à des efforts un peu plus prolongés, des troubles encore circonscrits se manifestent, c'est l'accident localisé, c'est l'immunité partielle ou relative ; que les microbes parviennent à déjouer longtemps les fonctions protectrices, s'implantent, sécrètent des poisons ou se propagent à distance, c'est la maladie bien caractérisée pouvant se terminer par la mort, ou bien rétrocéder devant les réactions laborieuses qui développent des qualités de résistance nouvelles, complétant ainsi à l'organisme l'immunité acquise. On conçoit facilement que le rôle des circonstances susceptibles de favoriser l'infection prenne une ampleur particulière dans ces cas d'immunité douteuse, incomplète, où la balance hésite ; des facteurs minimes suffisent à la faire pencher. On admet que les microbes associés sont plus dangereux lorsqu'ils se trouvent dans un organisme que lorsqu'ils sont isolés. On admet que les traumatismes favorisent l'infection. Nous n'insisterons pas sur tous ces détails bien connus des biologistes.

Nos expériences ont porté sur des blattes vigoureuses, nourries avec des aliments normaux. Préalablement, les blattes étaient laissées pendant deux jours au laboratoire pour se rendre compte de leur vitalité.

A. — L'IMMUNITÉ NATURELLE

Le problème à résoudre est le suivant : *les blattes présentent-elles une immunité naturelle lorsqu'on injecte dans le sein de leur organisme des microbes et des toxines ?*

Tout d'abord, voyons si le traumatisme seul (piqûre par une aiguille à injection) produit des accidents.

EXPÉRIENCE I. — On pique deux blattes avec une aiguille fine entre les anneaux abdominaux. Les blattes restent vivantes pendant plus de deux semaines et ne présentent rien d'anormal.

Donc, le traumatisme ne suffit pas pour tuer les blattes.

Voyons aussi si le liquide-bouillon est nocif.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à trois blattes du bouillon stérilisé (0,2 cm³). Le lendemain une blatte est morte, mais elle a été contaminée ; les deux autres sont vivantes. Deux semaines après elles sont toujours vivantes.

Donc, le bouillon stérilisé n'est pas nocif pour les blattes.

Dans certains cas, nous avons eu recours au sérum physiologique ; donc, il était nécessaire de savoir si le sérum est toxique pour les blattes.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux blattes du sérum physiologique (7 p. 1000). Les blattes supportent très bien une dose de 0,2 cm³ de ce sérum.

Donc, les blattes résistent à l'injection du sérum physiologique.

1° — MOYEN DE CONTAMINATION : *le microbe A. T. D. B.*

EXPÉRIENCE I. — On dilue 0,5 cm³ de la culture A en bouillon dans 3 cm³ d'eau physiologique. On injecte à trois blattes 0,2 cm³ de ce mélange (0,2 cm³ pour chaque blatte). Le jour de l'expérience toutes les blattes sont vivantes. Le lendemain, elles commencent à présenter des

troubles consistant en une parésie légère. Une semaine après on trouve deux blattes mortes et la troisième très malade : elle ne marche pas, elle répond seulement aux excitations mécaniques par des mouvements lents. Le même jour, dans l'après-midi, on la trouve morte.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à trois blattes ($0,2\text{ cm}^3$) de la culture pure en bouillon liquide du microbe A (la culture n'est pas très riche, le microbe A pousse très lentement et très difficilement, mais néanmoins il y a développement du microbe que l'on constate au microscope). Les blattes, avant l'expérience, sont très vigoureuses. Le jour de l'expérience, toutes les blattes sont vivantes, le lendemain aussi, mais le troisième jour elles sont mortes.

EXPÉRIENCE III. — On pique avec une aiguille à injection trempée dans la culture du microbe A en bouillon liquide, plusieurs blattes vigoureuses. Par cette piqûre, la contamination est certaine. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Deux jours après, elles sont toujours vivantes ; une semaine après, elles commencent à présenter des troubles consistant dans des mouvements extrêmement lents et enfin, le dixième jour, elles sont toutes mortes.

EXPÉRIENCE IV. — On pique trois blattes avec une aiguille trempée dans la culture A. Les blattes sont vigoureuses. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Trois jours après, elles sont bien portantes. Cinq jours après, elles commencent à présenter des troubles de la marche et le huitième jour elles sont mortes.

Conclusions : Le Periplaneta orientalis ne possède aucune immunité naturelle contre le microbe A, lorsque celui-ci est injecté dans la cavité générale de cet animal.

2° — MOYEN DE CONTAMINATION : le bacille rouge (T. D. B).

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux blattes ($0,2\text{ cm}^3$) de la culture en bouillon liquide du bacille rouge T. D. B. Les blattes sont vigoureuses. Le jour de l'expérience, les blattes sont bien portantes. Trois jours après, elles commencent à présenter des troubles de la marche. Au bout d'une semaine, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — On pique deux blattes avec une aiguille trempée dans la culture du bacille rouge. Les blattes sont vigoureuses. Le jour de l'expérience toutes les blattes sont vivantes. Trois jours après, elles ne présentent rien d'anormal. Une semaine après, elles commencent à présenter quelques troubles de la marche. Le dixième jour, elles sont mortes.

Conclusions : Les blattes ne présentent aucune immunité naturelle contre le bacille rouge isolé de leur tube digestif, lorsqu'il est injecté directement dans la cavité générale de l'animal.

3° — MOYEN DE CONTAMINATION : le bacille d'Eberth.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à trois blattes (0,1 cm³) de la culture pure du bacille d'Eberth. Quelques minutes après l'injection, les trois blattes semblent très malades, très intoxiquées. Leurs mouvements sont lents et même dans quelques cas elles restent immobiles. Ceci nous indique une imprégnation puissante par les toxines éberthiennes, car en si peu de temps, ce n'est pas le microbe lui-même qui, par sa présence corpusculaire, eut troublé ainsi l'organisme, mais ce sont ses toxines. Trois heures après l'injection, une blatte est morte, les autres sont extrêmement malades. Le lendemain, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à trois blattes (0,1 cm³) de la culture pure du bacille d'Eberth (culture vieille de trois jours) dans la cavité générale, en passant par un interstice des anneaux abdominaux. Le jour de l'expérience, les blattes ne paraissent pas gravement touchées, leurs mouvements sont ralentis. Trois jours après, elles sont vivantes. Cinq jours après, une blatte est morte, les deux autres sont vivantes et malades. Le huitième jour, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE III. — On pique avec une aiguille trempée dans la culture éberthienne trois blattes vigoureuses. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Une semaine après, elles commencent à présenter des troubles du côté de la marche. Le dixième jour, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE IV. — On pique avec une aiguille à injection trempée dans la culture du bacille d'Eberth (culture vieille de trois jours) trois blattes bien vigoureuses. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Quelques jours après, elles présentent des troubles de la marche et enfin le douzième jour elles sont mortes.

Conclusions : les blattes ne possèdent aucune immunité naturelle contre le bacille d'Eberth, lorsque celui-ci est injecté directement dans la cavité générale.

4. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le bacille de la culture 2 T. D. B.*

EXPÉRIENCE I. — On injecte trois blattes vigoureuses avec de la culture 2 T. D. B. (0,2 cm³). La culture est âgée de trois jours, n'est pas bien développée. Le jour de l'expérience les blattes sont bien portantes. Deux jours après elles sont toujours bien portantes. Une semaine après, elles présentent des troubles et le même jour, dans l'après-midi, une blatte est morte. Le lendemain les deux autres blattes sont mortes.

Donc, les blattes ne possèdent aucune immunité naturelle contre le bacille 2 isolé de leur tube digestif et inoculé dans la cavité générale.

5. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On injecte 0,1 cm³ d'une culture colibacillaire diluée dans l'eau physiologique (2 cm³ de culture dans 5 cm³ d'eau physiologique) à deux blattes vigoureuses. Le jour de l'expérience les blattes ne présentent rien d'anormal. Deux jours après, elles présentent des troubles de la marche. Le dixième jour, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à trois blattes 0,1 cm³ d'une culture colibacillaire diluée dans l'eau physiologique. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Cinq jours après elles présentent des troubles et le huitième elles sont mortes.

EXPÉRIENCE III. — On injecte à trois blattes 0,1 cm³ d'une culture colibacillaire pure non diluée, âgée de 48 heures, dans la cavité générale entre les anneaux abdominaux. Les blattes sont vigoureuses. Le jour de l'expérience les blattes ne présentent rien d'anormal. Le lendemain les blattes sont normales, mais le troisième jour elles sont mortes.

EXPÉRIENCE IV. — On pique trois blattes avec une aiguille à injection trempée dans la culture colibacillaire jeune et virulente. Les blattes sont vigoureuses. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Le huitième jour deux des blattes sont mortes et le dixième la troisième est morte.

Conclusion : De toutes ces expériences, nous pouvons conclure que les blattes ne possèdent pas une immunité naturelle contre les colibacilles introduits dans leur cavité générale.

6. — MOYEN DE CONTAMINATION : le bacille pyocyanique.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux blattes de la culture du bacille pyocyanique (0,1 cm³) dans la cavité générale. Les blattes sont vigoureuses. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent aucun trouble. Au bout de deux jours les deux blattes sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — On inocule dans la cavité générale de quelques blattes 0,1 cm³ de la culture du bacille pyocyanique. Les blattes sont vigoureuses. Le jour de l'expérience, les blattes paraissent malades et le lendemain elles sont mortes.

EXPÉRIENCE III. — On pique trois blattes avec une aiguille trempée dans la culture du bacille pyocyanique. Le lendemain elles sont mortes.

Donc, le Periplaneta orientalis ne possède aucune immunité naturelle contre le bacille pyocyanique injecté dans sa cavité générale.

Jusqu'à présent, nous nous sommes contenté de constater les faits. Analysons le sort des microbes inoculés : que deviennent-ils ? Y a-t-il indice de la défense de l'animal ? Y a-t-il une phagocytose, si légère soit-elle ? Les expériences ci-dessous vont répondre à la question.

EXPÉRIENCE I. — On pique deux blattes bien vigoureuses avec une aiguille trempée dans la culture colibacillaire ; on examinera le sang au bout de 24 heures. Le lendemain une blatte est morte, l'autre est bien portante. On ouvre la cavité générale de la blatte vivante et on examine le liquide cavitairé. A l'examen microscopique, on constate des microbes mobiles, vivants ; on ne remarque pas de granulations extra-cellulaires, vestiges de bactéries fragmentées. Les préparations (frottis) colorées montrent la *parfaite coloration des microbes* (bleu de méthylène), *aucune fragmentation microbienne, aucune phagocytose.*

EXPÉRIENCE II. — On injecte une blatte avec de la culture colibacillaire jeune et virulente. La blatte est vigoureuse. L'expérience est faite à 10 h. du matin. A 4 heures de l'après-midi, on examine le liquide cavitairé. L'examen microscopique du liquide (coloration vitale : rouge neutre) ne montre pas de microbes phagocytés ni de microbes fragmentés, c'est-à-dire des granulations quelconques extra-cellulaires, mais des microbes mobiles et en assez grande quantité.

Donc ces expériences montrent qu'il n'y a aucune phagocytose de la part des globules sanguins de la blatte pour les colibacilles. Il est inutile de relater les autres expériences faites sur d'autres microbes, parce qu'elles ont donné les mêmes résultats.

Examinons maintenant un autre problème. En injectant des cultures complètes aux animaux, nous injectons des toxines sécrétées par ces microbes. Dissocions le phénomène et voyons ce que deviennent les animaux inoculés avec les toxines.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux blattes des exotoxines colibacillaires (0,1 cm³). Ces toxines sont obtenues en filtrant des cultures colibacillaires en bouillon liquide âgées d'une semaine. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent aucun phénomène anormal. Le lendemain, elles sont vivantes. Trois jours après, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à deux blattes des toxines pyocyaniques (0,1 cm³) que l'on obtient en filtrant des cultures du bacille pyocyanique âgées d'une semaine. Le jour de l'expérience, les blattes sont vivantes et le troisième elles sont mortes.

Donc, les blattes ne possèdent aucune immunité naturelle contre les toxines du bacille pyocyanique et du colibacille injectées dans leur cavité générale.

B). L'IMMUNITÉ ACQUISE

Puisque les blattes ne possèdent aucune immunité naturelle contre les microbes avec lesquels nous avons expérimenté, y a-t-il possibilité de les immuniser contre ces microbes. Nous possédons plusieurs méthodes pour essayer l'immunisation chez les animaux. Nous avons d'abord la *vaccination*. La vaccination n'est autre chose que la détermination de l'immunité active conférée par une maladie ou par l'introduction d'un virus, ou de l'immunité passive

conférée par les sérums. On peut employer le virus lui-même contre lequel on veut vacciner. On peut employer le virus à l'état actif ou le virus atténué. On peut n'inoculer qu'un petit nombre de microbes virulents. On peut inoculer une dose virulente, mais en choisissant une porte d'entrée qui ne soit pas dangereuse. Le plus souvent on fait des inoculations *de virus atténué*. L'atténuation des microbes pour obtenir des vaccins peut s'obtenir par la chaleur (Pasteur), par le vieillissement. On peut employer non plus les microbes et les cultures totales atténuées ou non, mais aussi les toxines d'un microbe. Enfin, nous avons employé encore deux méthodes qui, à notre connaissance, sont employées pour la première fois pour l'immunisation des invertébrés. Ce sont les voies digestives et les voies respiratoires. En effet, on peut supposer que les principes transformés, neutralisés par les liquides digestifs et ensuite absorbés produisent chez l'animal ainsi en expérience des substances ou des propriétés nouvelles qui immuniseraient l'animal.

Nous allons relater nos expériences effectuées sur des blattes et on verra que les blattes ne peuvent pas réagir et fabriquer des anticorps destructeurs et immunisants.

A). IMMUNISATION PAR LES VOIES DIGESTIVES

EXPÉRIENCE I. — On nourrit pendant deux semaines des blattes avec des cultures microbiennes A. T. D. Le quinzième jour, on inocule à ces blattes, dans la cavité générale, des microbes A vivants et virulents. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent aucun phénomène morbide. Le lendemain, elles sont toujours vivantes. Deux jours après, deux sont mortes et une reste vivante. Le troisième jour, la dernière blatte est morte.

EXPÉRIENCE II. — On nourrit pendant quelques jours des blattes avec

les cultures microbiennes A. Le quinzième jour, on inocule à ces blattes des cultures microbiennes A. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Deux jours après, une est morte et le quatrième toutes sont mortes.

EXPÉRIENCE III. — On nourrit des blattes pendant trois semaines avec des cultures microbiennes colibacillaires. Le vingt-deuxième jour, on injecte des colibacilles dans la cavité générale de ces animaux. Le jour de l'expérience, les blattes ne présentent rien d'anormal. Le deuxième jour, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE IV. — On nourrit des blattes pendant un mois avec des cultures colibacillaires. Au bout de ce mois, on injecte dans la cavité générale de ces animaux des colibacilles. Deux jours après, toutes les blattes sont mortes.

EXPÉRIENCE V. — On nourrit des blattes pendant trois semaines avec des cultures du bacille pyocyanique. Au bout de ce temps on injecte dans la cavité générale de ces animaux des bacilles pyocyaniques vivants. Deux jours après, toutes les blattes sont mortes.

EXPÉRIENCE VI. — On nourrit des blattes pendant trois semaines avec des cultures microbiennes du bacille pyocyanique. Au bout de ce temps, on injecte dans la cavité générale de ces animaux des bacilles pyocyaniques vivants. Deux jours après, toutes les blattes sont mortes.

Donc, on peut conclure qu'il est impossible d'immuniser le Periplaneta orientalis par l'ingestion des cultures microbiennes.

B). IMMUNISATION PAR LES VOIES RESPIRATOIRES

EXPÉRIENCE I. — On contamine les voies respiratoires des blattes par le procédé habituel, avec des colibacilles. Une semaine après, on fait la seconde contamination et quelques jours après la troisième contamination. Sept jours après la dernière, on inocule à deux de ces blattes des colibacilles et à deux autres des toxines colibacillaires. Le jour de l'expérience, toutes les blattes sont vivantes et le quatrième jour elles sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — On contamine les voies respiratoires des blattes avec une culture du bacille pyocyanique. Une semaine après, on fait la seconde contamination et quelques jours après, la troisième. Sept jours après la dernière inoculation, on inocule à deux blattes des bacilles pyocyaniques et à deux autres des toxines des bacilles pyocyaniques. Le jour de l'expérience, les blattes sont vivantes. Le lendemain, les blattes inoculées avec les bacilles pyocyaniques sont mortes et le troisième jour, celles inoculées avec les toxines sont mortes également.

Donc, il est impossible d'immuniser les blattes par les voies respiratoires, comme le montrent d'une façon mathématique les expériences ci-dessus.

C). IMMUNISATION PAR LES MICROBES TUÉS PAR LA CHALEUR

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille à injection trempée dans la culture colibacillaire tuée à 100°, trois blattes, entre les anneaux abdominaux. Huit jours après, on a seulement une blatte qui est vivante. On fait la deuxième piqûre avec la même culture tuée. Deux jours après, la blatte est morte.

EXPÉRIENCE II. — On pique avec une aiguille à injection trempée dans la culture du bacille pyocyannique tuée à 100°, trois blattes bien vigoureuses. Huit jours après, deux blattes sont vivantes, la troisième est morte. On pratique une deuxième piqûre avec la même culture, sur les deux survivantes. Deux jours après, une blatte est morte. On fait une troisième piqûre une semaine après. Le lendemain, la dernière blatte est morte.

Donc, il est impossible d'immuniser les blattes contre les colibacilles et les bacilles pyocyaniques, en se servant des cultures tuées par la chaleur, comme procédé d'immunisation.

D). L'IMMUNISATION PAR LES ANCIENNES CULTURES

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille trempée dans une culture de bacille pyocyannique âgée d'un mois, trois blattes vigoureuses. Le lendemain elles sont vivantes. On injecte alors à ces blattes des bacilles pyocyaniques jeunes. En même temps, on injecte à deux blattes normales de cette culture jeune. Le lendemain, toutes les blattes sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — On pique trois blattes avec une aiguille trempée dans une culture colibacillaire âgée d'un mois. Le lendemain, les blattes sont vigoureuses. On injecte alors à ces mêmes blattes des colibacilles jeunes. En même temps on injecte de ces mêmes cultures jeunes à des blattes normales.

Le lendemain, les blattes préalablement piquées, puis injectées, sont mortes. Les blattes injectées pour la première fois sont extrêmement malades. Le lendemain, ces blattes sont mortes.

Donc, il est impossible d'immuniser les blattes en leur injectant tout d'abord des microbes très atténués par le vieillissement, contre les colibacilles et les bacilles pyocyaniques.

E). L'IMMUNISATION PAR LES VIRUS JEUNES

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille à injection très fine, trempée dans une culture colibacillaire jeune et diluée à 100 %, six blattes bien vigoureuses. Deux jours après, une blatte est malade, les autres sont vivantes et bien portantes. Le quatrième jour, deux blattes encore sont mortes. Six jours après, on injecte aux blattes restées vivantes 0,1 cm³ de la culture colibacillaire jeune et virulente. Le lendemain, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — On pique avec une aiguille à injection extrêmement fine, trempée dans une culture de bacille pyocyanique, six blattes bien vigoureuses. Deux jours après, une blatte est morte. Le quatrième jour, une nouvelle blatte est morte. Six jours après, on injecte aux blattes restées vivantes des bacilles pyocyaniques. Le lendemain, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE III. — On pique avec une aiguille à injection trempée dans la culture A, trois blattes bien vigoureuses. Six jours après, on inocule dans la cavité générale deux de ces blattes avec une culture A. Deux jours après, les blattes sont vivantes (en examinant la culture au microscope on s'est rendu compte que les microbes A n'étaient pas développés, car la culture était mise à l'étuve à 37°).

EXPÉRIENCE IV. — On pique avec une aiguille à injection trempée dans la culture A, trois blattes. Une semaine après, on inocule à ces blattes une plus grande quantité de ces microbes. Le deuxième jour, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE V. — On pique avec une aiguille trempée dans la culture colibacillaire jeune et virulente, six blattes bien vigoureuses (culture diluée à 100 %). Deux jours après, on trouve deux blattes mortes. Cinq jours après, une blatte est encore morte; sept jours après, on fait la deuxième piqûre aux blattes vivantes. Deux jours après, une blatte est morte. Sept jours après, on injecte la dernière blatte vivante. Deux jours après, elle est morte.

EXPÉRIENCE VI. — On pique avec une aiguille fine trempée dans une culture de bacille pyocyanique six blattes vigoureuses. Deux jours après, une blatte est morte, les autres sont vivantes. Le quatrième jour, une blatte est encore morte. Le septième jour, on pique pour la deuxième fois

les blattes restées vivantes. Deux jours après, deux blattes sont mortes. Sept jours après la deuxième piqûre, on fait une injection de 0,1 cm³ de la culture du bacille pyocyanique aux blattes vivantes. Le lendemain, elles sont mortes.

EXPÉRIENCE VII. — On injecte à plusieurs blattes déjà piquées depuis quinze jours, une culture colibacillaire. Les blattes sont vigoureuses et ne présentent rien d'anormal. Le lendemain elles sont mortes.

EXPÉRIENCE VIII. — On injecte à plusieurs blattes déjà piquées depuis 15 jours une culture du bacille pyocyanique. Le lendemain, toutes les blattes sont mortes.

Donc, il n'est pas possible d'immuniser les blattes par des contaminations extrêmement légères avec des virus jeunes. Donc, pas d'immunité acquise.

*Conclusions : par tous les procédés qui sont à la disposition pour immuniser un animal, nous avons essayé d'obtenir une immunité acquise chez le *Periplaneta orientalis*. Nos expériences prouvent avec une rigueur absolue qu'il est impossible d'obtenir une immunité acquise chez ces animaux.*

Sauterelles.

La seconde espèce appartenant aux orthoptères que nous avons étudiée est la sauterelle (1). Donc nos recherches sur les orthoptères sont effectuées sur deux types dont les réactions diffèrent comme nous allons le voir par l'exposé des expériences. Certains auteurs prétendent que les orthoptères possèdent des organes phagocytaires et que par conséquent ces animaux sont bien armés pour se défendre contre les infections microbiennes ou parasitaires. Les résultats auxquels ont abouti nos recherches ne sont pas d'accord avec les prévisions de ces auteurs. Nous ne voulons pas nier l'existence de ces organes phagocytaires, car nous n'avons

(1) Le genre ni l'espèce de cette sauterelle n'ont été déterminés.

pas fait de recherches de contrôle. Nos résultats démontrent que même si ces organes sont des moyens de défense, ils sont très insuffisants pour préserver l'animal de la mort. Il faut donc autre chose que ces organes phagocytaires et que les phagocytes pour que l'animal résiste aux infections. Il faut qu'il y ait des propriétés spéciales des humeurs pour que l'animal soit vainqueur. Il est inutile de continuer ces critiques et bornons-nous à exposer les expériences.

On a effectué deux ordres de recherches : contamination des voies digestives et contamination de la cavité générale.

I. — Contamination des voies digestives.

1. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyannique.*

EXPÉRIENCE I. — On infecte des herbes par une culture du bacille pyocyannique jeune et virulente. On donne ces herbes comme nourriture à trois sauterelles. Ces animaux examinés ne présentent aucune plaie extérieure. Le lendemain, *elles sont mortes.*

EXPÉRIENCE II. — On dépose sur la cavité buccale de plusieurs sauterelles des gouttes de culture du bacille pyocyannique. On voit disparaître sous ses yeux les gouttes déposées. Les sauterelles ne présentent aucune plaie. Le lendemain elles sont mortes.

Donc les sauterelles ne possèdent aucune immunité naturelle contre la culture du bacille pyocyannique lorsqu'elle est ingérée par ces animaux.

2. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On donne à plusieurs sauterelles des herbes infectées par des cultures colibacillaires jeunes et virulentes. Les sauterelles ne présentent aucune plaie extérieure. Le lendemain une sauterelle est morte et le surlendemain les autres sauterelles sont aussi mortes.

EXPÉRIENCE II. — On dépose à plusieurs sauterelles des gouttes de la

culture colibacillaire jeune et virulente sur la cavité buccale. Le lendemain toutes sont mortes.

Donc les sauterelles ne présentent aucune résistance contre les cultures colibacillaires lorsqu'elles sont ingérées par ces animaux.

A quoi est due la mort ? Y a-t-il passage des microbes du tube digestif dans la cavité générale qui expliquerait la mort ? A cette question les expériences ci-dessous répondront :

EXPÉRIENCE I. — Onensemence le liquide de la cavité générale d'une sauterelle nourrie avec la culture du bacille pyocyanique dans un tube du bouillon ordinaire. Le lendemain la culture est négative, aucun développement microbien. Le surlendemain la culture est négative.

EXPÉRIENCE II. — Onensemence le liquide de la cavité générale d'une sauterelle nourrie avec une culture colibacillaire dans un tube à bouillon au rouge neutre. Le surlendemain aucun virage, aucun développement microbien. Le surlendemain la culture est toujours négative, aucun virage.

Donc, les expériences démontrent qu'il n'y a aucun passage microbien du tube digestif dans la cavité générale des sauterelles et par conséquent la mort n'est pas fonction de la présence des microbes dans la cavité générale de l'animal mort.

Or, en donnant une nourriture microbienne, nous avons donné en même temps des toxines déjà sécrétées par ces microbes. Pendant la digestion, les toxines ne sont pas détruites ni neutralisées. Absorbées ainsi, si l'animal ne possède pas des moyens pour neutraliser ou détruire les toxines, il est voué forcément à la mort. Donc, ceci démontre que les toxines introduites ou produites dans le tube digestif des sauterelles, ne sont pas détruites ou neutralisées. Elles sont absorbées ainsi et l'animal, ne possédant pas de moyens dans sa cavité générale de les détruire, meurt par l'intoxication. *Donc les sucs digestifs des sauterelles ne possèdent pas de propriétés pour détruire les microbes et les toxines.*

II. — Contamination de la cavité générale.

Il a été recherché comment se comportaient les sauterelles lorsqu'on leur injectait directement dans la cavité générale certains microbes. Les résultats étaient prévus, puisque l'animal nourri avec ces microbes meurt par intoxication.

1. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille très fine trempée dans une culture colibacillaire jeune et virulente, entre les anneaux abdominaux, plusieurs sauterelles. Les sauterelles sont vigoureuses. Dans l'après-midi une sauterelle est très malade et le lendemain toutes sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — On pique avec une aiguille fine trempée dans une culture colibacillaire jeune et virulente plusieurs sauterelles entre les anneaux abdominaux. Les sauterelles avant l'expérience sont vigoureuses, le lendemain elles sont mortes.

Donc ces expériences montrent que les sauterelles ne présentent aucune immunité naturelle contre les colibacilles injectés dans leur cavité générale.

2. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyanique.*

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille très fine deux sauterelles ; l'aiguille a été trempée dans une culture de bacille pyocyanique. Le lendemain, les deux sauterelles sont mortes.

EXPÉRIENCE II. — On pique avec une aiguille extrêmement fine trempée dans une culture de bacille pyocyanique deux sauterelles vigoureuses. Le lendemain elles sont mortes.

Donc, les sauterelles ne présentent aucune immunité naturelle

contre le bacille pyocyanique lorsque celui-ci est injecté directement dans la cavité générale de ces animaux.

Il est inutile de relater toutes les expériences qui nous ont montré qu'il est impossible d'immuniser ces animaux ; nous nous contenterons de dire qu'ils ne possèdent pas une *immunité acquise*.

Graphosoma lineatum L.

Cette espèce appartient au groupe des hémiptères. C'est sur elle que nous avons réalisé les expériences types sur l'immunité en général chez les insectes. Nous avons effectué deux ordres de recherches : la contamination du tube digestif et la contamination de la cavité générale.

I. — Contamination par les voies digestives.

1. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le colibacille*.

EXPÉRIENCE I. — On contamine les fleurs sur lesquelles vivent les graphosoma (persil) avec des cultures colibacillaires jeunes et virulentes. Les graphosoma déposés sur ces fleurs sont forcément infectés. Le jour de la contamination ils sont vivants et ne présentent rien d'anormal. Le lendemain, ils présentent des troubles de la marche et le surlendemain ils sont morts.

EXPÉRIENCE II. — On dépose sur le rostrum de plusieurs graphosoma des gouttes de la culture colibacillaire. Ces gouttes sont absorbées devant nos yeux. Donc, la contamination des voies digestives est certaine. Le deuxième jour, les graphosoma sont morts.

EXPÉRIENCE III. — On donne des fleurs contaminées par des cultures colibacillaires à plusieurs graphosoma. En même temps on a des témoins. Le lendemain, un graphosoma nourrit avec des fleurs contaminées est

mort. Le deuxième jour, les graphosoma infectés sont morts et les témoins vivants.

Donc, les graphosoma ne possèdent aucune résistance contre la culture colibacillaire vivante ingérée par eux.

2. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyanique.*

EXPÉRIENCE I. — On contamine les fleurs sur lesquelles vivent les graphosoma avec des cultures du bacille pyocyanique. Les graphosoma s'infectent en suçant les fleurs. Le deuxième jour, ils sont morts.

EXPÉRIENCE II. — On dépose sur le rostrum des graphosoma des gouttes de culture du bacille pyocyanique jeune et virulente. Les gouttes disparaissent sous nos yeux. Le deuxième jour, ils sont morts.

EXPÉRIENCE III. — On contamine les fleurs sur lesquelles vivent les graphosoma. On a des témoins. Le lendemain, tous les graphosoma vivant sur les fleurs contaminées sont morts et les témoins vivants.

Donc, les graphosoma ne possèdent aucune résistance naturelle contre le bacille pyocyanique ingéré par eux.

Comment expliquer cette mort ? Y a-t-il passage des microbes du tube digestif dans la cavité générale ?

EXPÉRIENCE I. — Onensemence le liquide de la cavité générale des graphosoma morts à la suite de la contamination par le bacille pyocyanique dans un tube de bouillon ordinaire. Le lendemain, la culture est négative, aucun développement microbien. Le lendemain et les jours suivants, la culture est négative.

EXPÉRIENCE II. — Onensemence le liquide de la cavité générale des graphosoma morts à la suite de la contamination par le colibacille dans un tube à bouillon au rouge neutre. Le lendemain, la culture est négative, pas de virage au jaune canari. Deux jours après, la culture est toujours négative.

Ces deux expériences prouvent qu'il n'y a pas de passage des microbes dans la cavité générale. Donc la mort ne peut pas être expliquée par le passage des microbes du tube digestif dans la cavité générale. Par contre, les microbes qui ont sécrété les toxines dans leur milieu de culture ou

dans le tube digestif de cet animal ne sont pas détruites ou neutralisées par les sucs digestifs et absorbées nocives, elles déterminent la mort de l'animal, car il ne possède pas une immunité naturelle antitoxique. Donc, la mort est due à l'absorption des toxines du colibacille et du bacille pyocyannique qui ne sont pas neutralisées ou détruites par les humeurs des graphosoma.

II. — Contamination de la cavité générale.

Les résultats obtenus à la suite de la contamination des voies digestives indiquent à priori les résultats que l'on va obtenir à la suite de la contamination de la cavité générale. Il est logique d'analyser ces expériences pour les comparer aux résultats obtenus avec d'autres espèces zoologiques.

1. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyannique.*

EXPÉRIENCE I. — On pique deux graphosoma avec une aiguille à injection trempée dans une culture de bacille pyocyannique. Les graphosoma avant l'expérience ne présentaient rien d'anormal. Le deuxième jour, ils sont morts.

EXPÉRIENCE II. — On pique plusieurs graphosoma avec une aiguille trempée dans une culture de bacille pyocyannique. Le deuxième jour, ils sont morts.

Donc, ces animaux ne possèdent aucune immunité naturelle contre le bacille pyocyannique injecté dans leur cavité générale.

2. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On pique des graphosoma avec une aiguille fine à in-

jection trempée dans une culture colibacillaire. Le deuxième jour, ils sont morts.

EXPÉRIENCE III. — On pique plusieurs graphosoma avec une aiguille à injection trempée dans une culture colibacillaire. Deux jours après, ils sont morts.

Donc, les graphosoma ne possèdent aucune immunité naturelle contre les colibacilles injectés dans leur cavité générale.

Bombyx (Séricaria) Mori.

Bombyx (Séricaria) Mori appartient au groupe des *Lépidoptères*. Cette espèce nous a été très précieuse à cause de la facilité avec laquelle on a pu se procurer du sang, pour démontrer le rôle des humeurs dans la défense naturelle chez les insectes.

Des recherches faites antérieurement par différents auteurs sur l'immunité chez les invertébrés, recherches effectuées surtout par Metchnikoff et son école, tendent à faire considérer la phagocytose comme le seul moyen de défense. Nous allons montrer qu'il n'en est pas toujours ainsi, mais nous nous garderons de généraliser les faits. Nous basant sur l'expérimentation, nous allons montrer seulement qu'il existe parfois chez les invertébrés des pouvoirs destructeurs par les liquides et les humeurs pour certaines espèces microbiennes.

Les vers-à-soie sont intéressants à étudier au point de vue de l'immunité, car ce sont des animaux à métamorphose. A priori, on peut supposer que ces animaux, pendant la métamorphose, ne possèdent pas toujours les mêmes propriétés. Nous savons que pendant cette période de transformation, les réactions ne peuvent pas être les mêmes. Nous insistons sur ce fait que nos expériences ont porté sur les trois stades principaux : ver, chrysalide et papillon.

A. — VERS. PREMIER STADE

Dans ce premier stade on a pu réaliser deux ordres de recherches : contamination des voies digestives pendant la période où les vers mangent et contamination de la cavité générale.

I. — Contamination des voies digestives.

1. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le colibacille*.

EXPÉRIENCE I. — On contamine les bords des feuilles de mûrier par une culture colibacillaire jeune et virulente. On laisse sécher un peu les bords, car les vers présentent cette particularité de ne pas manger les feuilles humides. On donne ces feuilles à trois vers bien vigoureux. Les vers en mangent. Le jour de l'expérience, les vers ne présentent aucun phénomène morbide. Le lendemain, ils sont vivants. Le quatrième jour, les vers ne mangent plus et commencent à coconer. Quelques jours après les cocons sont complets.

EXPÉRIENCE II. — On nourrit trois vers avec des feuilles de mûriers contaminées par une culture colibacillaire jeune et virulente. Tous les jours on réinfecte les feuilles. Quelques jours après les vers ne mangent plus et commencent à coconer. Le dixième jour les cocons sont complets.

EXPÉRIENCE III. — On dépose sur la cavité buccale de deux vers des gouttes d'une culture colibacillaire jeune et virulente. Pendant trois jours on répète la même expérience sur les mêmes vers. Le jour de l'expérience les vers ne présentent aucun phénomène morbide. Quelques jours après ils commencent à coconer et au bout de plusieurs jours les cocons sont complets.

Donc, les vers nourris par une nourriture contaminée avec des cultures colibacillaires résistent admirablement à cette contamination. Leur évolution reste normale. Les vers normaux ont fait leurs cocons en même temps que les vers en expérience.

2. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyanique.*

EXPÉRIENCE I. — On contamine les bords des feuilles de mûrier avec une culture de bacille pyocyanique jeune et virulente. On laisse sécher les bords et on donne cette nourriture à trois vers vigoureux qui mangent comme si elle était normale. Quelques heures après les vers sont dans un état lamentable. Ils sont très malades, ont rejeté par leur cavité buccale des liquides, ont eu de véritables vomissements. Le lendemain, deux vers sont morts et le troisième meurt dans l'après-midi. Donc, les vers présentent cette particularité de vomir quelques heures après la contamination et c'est un indice de l'intoxication généralisée.

EXPÉRIENCE II. — On nourrit deux vers avec des feuilles de mûrier trempées dans une culture du bacille pyocyanique jeune et virulente. Dans l'après-midi, les vers présentent des vomissements, deviennent ratatinés et le lendemain sont morts.

EXPÉRIENCE III. — On dépose quelques gouttes d'une culture de bacille pyocyanique sur la cavité buccale de deux vers. Le jour de l'expérience les vers vomissent et le lendemain ils sont morts.

Donc, les vers nourris avec une nourriture contaminée par des cultures de bacille pyocyanique ne possèdent aucune résistance et, après avoir présenté des phénomènes d'intoxication grave (vomissements, adynamie), meurent en peu de temps. Donc, aucune protection naturelle de la part du tube digestif contre l'effet nocif de cette culture.

Pourquoi dans le cas du colibacille n'avons-nous pas eu la mort, tandis que dans le cas du pyocyanique la mort a été rapide et certaine ? Y a-t-il passage des microbes à travers l'épithélium intestinal dans la cavité générale qui, dans le cas du bacille pyocyanique, déterminent la mort ? Non, car les expériences pour résoudre ce problème ont montré qu'il n'y a pas de passage des microbes du tube digestif dans la cavité générale.

EXPÉRIENCE I. — On ensemence un peu de liquide de la cavité générale des vers morts à la suite de l'ingestion du bacille pyocyanique, dans un tube à bouillon liquide. La culture reste négative pendant plusieurs jours.

Les accidents aigus observés sur les vers : vomissements et adynamie, sont plus les signes d'une intoxication grave que d'une infection. En réalité, la mort est due à l'absorption des toxines pyocyaniques. Il suffit qu'une très petite quantité de toxines pyocyaniques soit absorbée pour déterminer la mort.

Pour expliquer la survie des vers contaminés avec des cultures colibacillaires on peut émettre plusieurs hypothèses. Les liquides digestifs détruisent-ils les microbes et les toxines ? S'agit-il d'une phagocytose par les éléments épithéliaux ou par les phagocytes émigrés ?

EXPÉRIENCE I. — On infecte des feuilles de mûrier par les cultures colibacillaires. On nourrit avec ces feuilles plusieurs vers pendant trois jours. Le quatrième jour, on prélève le tube digestif et on le place dans le liquide fixateur. Les coupes montrent l'absence des microbes dans les



Fig. 4. — Intestin de ver à soie.

cellules épithéliales ; pas de microbes dans les interstices cellulaires. Les tissus sous-épithéliaux ne présentent pas de microbes, pas de phagocytes émigrés (fig. 4).

Y a-t-il destruction des microbes par les liquides digestifs ?

EXPÉRIENCE I. — On prélève du liquide digestif de quelques vers. On

verse dans ces liquides une goutte de culture colibacillaire. On laisse ainsi le mélange pendant 48 heures et au bout de ce temps onensemence un tube à bouillon au rouge neutre. Le lendemain et les jours suivants, la culture est négative, il n'y a pas de virage au jaune canari. Donc, absence du colibacille.

EXPÉRIENCE II. — On prélève du liquide digestif de quelques vers. On verse dans ces liquides une petite goutte d'une culture colibacillaire. Au bout de 24 heures, onensemence ce liquide dans un tube à bouillon au rouge neutre. Le lendemain et les jours suivants, on n'obtient aucun virage au jaune canari.

EXPÉRIENCE III. — On infecte quelques centimètres cubes du liquide digestif de plusieurs vers avec du colibacille. Au bout de 24 heures onensemence ce mélange dans un tube à bouillon au rouge neutre. Le lendemain et les jours suivants, la culture reste négative, aucun virage au jaune canari.

Toutes ces expériences démontrent que les colibacilles sont détruits par les sucs digestifs des vers à soie.

Par contre, si on met en contact le liquide digestif des vers avec le bacille pyocyanique, les résultats ne sont pas les mêmes.

EXPÉRIENCE I. — On contamine le liquide digestif des vers avec les bacilles pyocyaniques. On laisse le contact de 24 heures, puis onensemence ce mélange dans un tube à bouillon ordinaire. Dès le soir de l'expérience, la culture a présenté à la surface un anneau verdâtre. Le lendemain la culture est positive, on a une belle fluorescence verte.

EXPÉRIENCE II. — On verse dans plusieurs centimètres cubes de liquide digestif des vers, une goutte d'une culture du bacille pyocyanique. Au bout de 24 heures, onensemence le mélange dans un tube à bouillon liquide. Le lendemain, on a une belle fluorescence verte.

Donc, les liquides digestifs des vers ne détruisent pas les bacilles pyocyaniques.

Quant à la question des toxines colibacillaires qui ne déterminent pas la mort, il est évident que ces toxines sont neutralisées ou détruites par les sucs digestifs et absorbées sous une forme que nous ignorons complètement.

II. — Contamination de la cavité générale.

Les recherches effectuées sur la contamination de la cavité générale des vers nous ont fait découvrir, chose signalée pour la première fois, que les humeurs cavitaires de certains invertébrés sont capables de détruire les corps microbiens en dehors de la phagocytose. Nos premières recherches faites en collaboration avec notre Maître, M. le Professeur Couvreur, ont été publiées dans une note à l'Académie des Sciences (1). Après avoir constaté que les vers nourris avec les cultures du colibacille résistent à cette contamination et après avoir découvert que ce sont les liquides digestifs qui détruisent ces microbes, nous avons pensé qu'il serait intéressant de voir si les humeurs cavitaires (sang) présentaient les mêmes propriétés. Ceci nous a amené à étudier de plus près l'immunité chez les vers à soie.

1. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyanique.*

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille fine trempée dans une culture de bacille pyocyanique, deux vers (la piqûre est faite dans une patte). Le lendemain, les vers sont vivants mais malades. Le surlendemain, ils sont morts.

EXPÉRIENCE II. — On pique avec une aiguille fine et trempée dans une culture de bacille pyocyanique deux vers. Le deuxième jour, les vers meurent.

EXPÉRIENCE III. — On pique deux vers avec une aiguille trempée dans une culture de bacille pyocyanique. Le deuxième jour, les deux vers sont morts.

(1) E. COUVREUR et X. CHAHOVITCH : Sur un mode de défense naturelle contre les infections microbiennes chez les invertébrés. C. R. A. S., 1921, n° 11, p. 711.

Donc, les vers ne possèdent aucune immunité naturelle contre les cultures du bacille pyocyanique.

2. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On pique deux vers avec une aiguille trempée dans une culture colibacillaire. Le jour de l'expérience, les vers ne présentent aucun phénomène morbide. Le deuxième jour, ils sont vivants. Quelques jours après, ils commencent à coconer. Les cocons sont parfaits, la métamorphose n'est pas troublée.

EXPÉRIENCE II. — On pique deux vers vigoureux avec une culture colibacillaire. Les vers continuent à évoluer normalement; les cocons sont normaux.

EXPÉRIENCE III. — On inocule une petite goutte de culture colibacillaire à deux vers gros et vigoureux. Les vers n'ont présenté aucun phénomène morbide et se sont transformés en chrysalides.

Donc, les vers piqués avec les cultures colibacillaires présentent une immunité naturelle très manifeste. L'évolution normale n'est pas troublée.

Quel est le mécanisme de cette immunité naturelle ? S'agit-il d'une phagocytose par les éléments sanguins, ou bien y a-t-il d'autres facteurs qui interviennent dans la lutte engagée entre les microbes et les vers ?

EXPÉRIENCE I. — On pique un vers avec une aiguille trempée dans une culture colibacillaire jeune et virulente. On examine le liquide sanguin du ver quelques heures après. Pas de microbes dans les globules sanguins.

EXPÉRIENCE II. — On pique un ver avec une aiguille trempée dans une culture de bacille pyocyanique. On examine le sang quelques heures après l'inoculation. Il n'y a pas de phagocytose par les éléments sanguins.

Y a-t-il destruction des microbes par les liquides sanguins sans intervention des globules ?

EXPÉRIENCE I. — On laisse en contact pendant 24 heures quelques gouttes de culture du colibacille avec quelques centimètres cubes de sang de ver à soie recueilli par la section d'une fausse patte, puis on ensemeence un tube de bouillon ordinaire au neutral roth avec ce mélange. Le lendemain, il y a un léger virage qui n'est pas jaune canari vrai.

EXPÉRIENCE II. — On laisse en contact pendant 24 heures une petite goutte de culture colibacillaire dans plusieurs centimètres cubes de sang de ver à soie, puis on ensemence un tube de bouillon ordinaire au neutral roth avec ce mélange. Le lendemain et les jours suivants, la culture est négative, il n'y a aucun virage au jaune canari.

Donc, le sang des vers à soie détruit in vitro les colibacilles lorsqu'il est mis en contact avec eux pendant 24 heures. Ces mêmes résultats sont obtenus in vivo.

EXPÉRIENCE I. — On pique un ver au colibacille. Le lendemain, on le saigne et on ensemence ce sang dans un tube de bouillon ordinaire au neutral roth. Le lendemain et les jours suivants la culture est négative, aucun virage au jaune canari.

EXPÉRIENCE II. — On ensemence le sang d'un ver piqué 48 heures avant la saignée avec les colibacilles, dans un tube de bouillon au rouge neutre. Le lendemain et les jours suivants la culture est négative, aucun virage au jaune canari.

Voyons maintenant l'action du sang des vers à soie sur les bacilles pyocyaniques.

EXPÉRIENCE I. — On laisse en contact pendant 24 heures une goutte de culture du bacille pyocyanique avec quelques centimètres cubes du sang de ver à soie recueilli par la section d'une fausse patte, puis on ensemence un tube de bouillon ordinaire avec ce mélange. Un anneau un peu verdâtre se développe en haut du tube, mais on n'a pas, dans ce dernier, la fluorescence ordinaire.

EXPÉRIENCE II. — Analogue à la précédente, sauf que le contact de la culture avec le sang a été de 48 heures. Pas d'anneau verdâtre, pas de fluorescence.

Donc, les bacilles pyocyaniques laissés en contact avec le sang des vers à soie pendant 48 heures sont détruits par ce sang.

Le résultat de ces expériences sur la destruction des microbes pyocyaniques par le sang *in vitro* et la mort des vers inoculés avec des bacilles pyocyaniques, semblent en contradiction. Or, si on analyse les faits, on s'aperçoit vite que dans le cas de mort, par exemple, des vers contaminés par les cultures du bacille pyocyanique dans le tube digestif, la mort est due aux toxines pyocyaniques et non pas aux microbes. Dans le cas où on a fait des piqûres avec

des cultures du bacille pyocyanique, on a introduit forcément des toxines qui déterminent la mort de l'animal avant que son sang ait détruit les corps microbiens.

B. — CHRYSALIDES DU VER A SOIE

DEUXIÈME STADE

La biologie de ce stade du développement ne permet pas de faire la contamination des voies digestives. A ce stade l'animal présente une structure anatomique particulière qui ne lui permet pas de se nourrir. Sa physiologie est aussi différente. Il n'est pas possible d'obtenir du sang pur, mais on obtient un mélange de sang et des autres liquides organiques. Donc, il a été simplement possible de faire les recherches sur la contamination de la cavité générale.

I. — Contamination de la cavité générale.

1. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le colibacille*.

EXPÉRIENCE I. — On pique trois chrysalides avec une aiguille trempée dans une culture colibacillaire. Les chrysalides sont mortes le deuxième jour.

EXPÉRIENCE II. — On pique trois chrysalides avec une aiguille trempée dans la culture colibacillaire. Les chrysalides résistent à cette inoculation et leur métamorphose est normale : des papillons ont éclos de ces chrysalides ainsi contaminées.

D'autres expériences confirment les résultats de l'expérience II, c'est-à-dire l'immunité naturelle remarquable des chrysalides contre les colibacilles inoculés dans leur cavité générale. La mort de l'expérience I est constatée après examen comme due à une

contamination accidentelle avec une culture de bacille pyocyannique.

2. — MOYEN DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyannique.*

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille fine trempée dans une culture de bacille pyocyannique trois chrysalides. Le jour de l'expérience, les trois chrysalides sont mortes après avoir rejeté, comme les vers, une très grande quantité de liquide.

EXPÉRIENCE II. — On répète la même expérience que ci-dessus et elle donne des résultats identiques : la mort des chrysalides.

Donc, les chrysalides ne possèdent aucune immunité naturelle contre la culture du bacille pyocyannique inoculée dans leur cavité générale.

Quel est le sort des microbes inoculés dans la cavité générale des chrysalides ? S'agit-il d'une destruction des microbes par les liquides sanguins ou par les globules sanguins ? Y a-t-il une phagocytose ?

Dans plusieurs expériences nous avons constaté que les globules sanguins des chrysalides ne phagocytaient pas les microbes inoculés. Les liquides sanguins détruisent-ils les microbes ?

EXPÉRIENCE I. — On verse une goutte de culture de colibacille dans quelques centimètres cubes de liquide cavitaire de chrysalide de ver à soie. On laisse ce contact pendant 24 heures et on ensemence ensuite avec ce mélange du bouillon ordinaire au rouge neutre. Il ne se produit aucun virage le lendemain et les jours suivants.

Donc, le liquide cavitaire des chrysalides possède cette propriété spéciale de détruire les colibacilles in vitro.

EXPÉRIENCE II. — On laisse en contact pendant 24 heures une goutte de culture du bacille pyocyannique avec quelques centimètres cubes de liquide cavitaire de chrysalide. Au bout de ce temps, on ensemence avec ce mélange du bouillon ordinaire. Aucune fluorescence pendant plusieurs jours ne se produit dans le tube.

Donc, le liquide cavitaires des chrysalides détruit les bacilles pyocyaniques au bout de 24 heures. Ici encore nous avons un phénomène d'apparence paradoxale : mort de l'animal à la suite de l'inoculation de la culture du bacille pyocyanique. Mais alors que le liquide cavitaires est destructeur des microbes, dans ce dernier cas, il s'agit d'une intoxication grave par les toxines pyocyaniques qui déterminent la mort. Le fait paradoxal ne l'est qu'en apparence.

C. — PAPILLONS (TROISIÈME STADE).

Nous avons eu à examiner plusieurs points chez les papillons : passage des microbes des stades antérieurs dans le stade final ; passage des microbes dans les œufs. D'une façon générale, nous avons constaté que tous les vers infectés par les colibacilles ont suivi leur évolution normale et se sont transformés en papillons. Les chrysalides piquées au colibacille ont évolué normalement en donnant naissance aux papillons.

Tout d'abord, nous allons envisager le problème de la contamination de la cavité générale des papillons par le colibacille et par le bacille pyocyanique.

I. — Contamination de la cavité générale.

1° MOYEN DE CONTAMINATION : *le colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille fine trempée dans une culture colibacillaire un papillon femelle qui est accouplée avec un papil-

lon mâle. Le jour de l'expérience, le papillon ne présente aucun phénomène morbide. Le deuxième jour, la femelle a pondu des œufs fécondés.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à un papillon une goutte de culture colibacillaire jeune et virulente. C'est seulement plusieurs jours après, que le papillon est mort naturellement (après l'accouplement).

Ces expériences et d'autres montrent que les papillons de Bombyx mori possèdent une immunité naturelle remarquable contre les colibacilles inoculés dans leur cavité générale.

2° MOYEN DE CONTAMINATION : le bacille pyocyanique.

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille fine trempée dans une culture de bacille pyocyanique, deux papillons normaux. Le jour de l'expérience, les papillons ne présentent rien d'anormal. Le lendemain, ils sont vivants. Le troisième jour, l'un est mort, l'autre, vivant.

EXPÉRIENCE II. — On injecte une goutte d'une culture de bacille pyocyanique à un papillon normal. Le jour de l'expérience, il ne présente aucun phénomène morbide, mais le lendemain il est mort.

Donc les papillons ne possèdent aucune immunité naturelle contre le bacille pyocyanique inoculé dans leur cavité générale. Dans l'expérience I, le papillon qui est resté vivant n'avait pas été contaminé ; d'autres expériences ont donné les résultats de l'expérience II.

II. — Recherche des microbes dans les œufs.

Y a-t-il passage des microbes de la cavité générale des papillons piqués avec des microbes, dans les œufs pondus par ces animaux ?

EXPÉRIENCE I. — On accouple un papillon que l'on injecte avec des colibacilles et un autre papillon que l'on pique au colibacille. Les œufs sont pondus et fécondés. On ensemence ces œufs dans un tube de bouillon au rouge neutre. Le lendemain et les jours suivants, la culture est négative, on n'a aucun virage au jaune canari.

EXPÉRIENCE II. — On accouple un papillon mâle que l'on a injecté avec les colibacilles et un papillon femelle que l'on a piqué avec les colibacilles. Les œufs sont pondus et fécondés. Les cultures sont négatives.

EXPÉRIENCE III. — On accouple un papillon mâle, provenant d'un ver piqué au coli avec une femelle provenant aussi d'un ver piqué au coli. Les œufs sont pondus et fécondés. Les recherches des colibacilles dans les œufs sont négatives.

Donc il n'y a pas de passage des microbes de l'organisme contaminé dans les œufs pondus. Donc il n'y a pas d'hérédité microbienne.

III. — Recherche des microbes dans les papillons provenant des vers contaminés.

EXPÉRIENCE I. — On prélève sur un papillon femelle provenant d'un ver piqué au colibacille, une portion des viscères et on les ensemente dans un tube de bouillon au rouge neutre. Le lendemain et les jours suivants on n'obtient aucun virage au jaune canari. Donc, il n'y a pas de persistance des colibacilles pendant la métamorphose.

EXPÉRIENCE II. — On prélève une portion des viscères d'un papillon femelle, provenant d'une chrysalide piquée au colibacille. La recherche du colibacille est négative. Donc, les microbes avaient été détruits dans l'organisme chrysalidaire.

Donc, il n'y a pas passage de certains microbes d'un stade dans un autre stade. Les microbes sont détruits in vivo, ce qui renforce les résultats obtenus avec des liquides correspondant in vitro. A rapprocher des résultats anciens de Couvreur. (Disparition chez le papillon des microbes du tube digestif du ver).

L'immunisation de Bombyx Mori contre les cultures du bacille pyocyannique.

Dans l'exposé systématique de nos recherches relatives à l'immunité chez le Bombyx mori, volontairement nous

n'avons pas voulu compliquer les choses en parlant de l'immunisation de ces animaux contre les cultures du bacille pyocyanique. Nous avons effectué des recherches sur l'immunisation des vers, des chrysalides et des papillons. Les procédés employés par nous pour tâcher d'obtenir une immunité acquise sont ceux employés pour l'immunisation des crustacés et d'autres animaux expérimentés par nous. Il est inutile de donner le compte-rendu de ces recherches calquées sur celles effectuées sur d'autres animaux. Nous nous contenterons de donner la loi générale : *il est impossible d'obtenir par les procédés connus actuellement dans la science, l'immunité acquise chez le Bombyx mori à ses différents stades de développement.*

Considérations générales.

A la suite de l'exposé de ces recherches, il est rationnel de rappeler la discussion surgie dans les comptes-rendus de l'Académie des Sciences et de la Société de Biologie entre M. Paillot, d'une part, et nous, d'autre part. M. Paillot, jusqu'à sa communication du mois de février 1921 à l'Académie des Sciences, soutenait une théorie : il soutenait que les insectes produisent des anticorps bactériolytiques à la suite de l'injection des microbes et il avait même localisé leur production dans le macronucléocyte (1). Plus tard, M. Paillot publia une note à l'Académie des Sciences (2), dans laquelle il admettait l'existence d'une immunité humorale naturelle en dehors de toute activité cellulaire. Cette dernière note a

(1) PAILLOT : L'immunité acquise chez les insectes (C. R. S. B. 1920, n° 2).

(2) PAILLOT : Mécanisme de l'immunité humorale chez les insectes C. R. A. S., t. 172, p. 397.

provoqué la publication d'une note par M. Couvreur et nous à l'Académie des Sciences (C. R. 14 mars 1921), où nous avons démontré que les recherches effectuées par nous au mois de Juin en 1920 ont abouti à la découverte de propriétés destructrices *préexistantes* dans le sang de différents invertébrés (*Bombyx mori*, *Hélix pomatia* en vie active). Donc, dans la note de M. Paillot, nous avons vu une confirmation des faits découverts par nous.

Or, la publication de notre découverte a ému M. Paillot qui a entamé une discussion qui a dégénéré en pure polémique. M. Paillot, dans une note présentée à l'Académie, le 4 avril 1921, proteste et critique nos expériences. Nous renvoyons les lecteurs au texte original de M. Paillot. M. Paillot dit notamment qu'il avait déjà constaté des faits d'immunité humorale en 1919. Or, dans cette note, M. Paillot parle d'immunité cellulaire et c'est seulement à la suite de ses expériences du début de 1921 qu'il parle d'une immunité humorale extra-cellulaire. D'ailleurs, les deux notes exposant deux conceptions différentes de M. Paillot, sont rapportées dans la partie historique de ce travail. A cette note de critique de M. Paillot, nous avons répondu comme suit: (1)

« M. Paillot ayant fait connaître à l'Académie des Sciences un mécanisme d'immunité humorale chez les insectes, comme nous avons fait nous-même antérieurement des constatations du même ordre, nous avons cru devoir signaler la chose. M. Paillot prétend actuellement avoir indiqué des faits analogues dès 1919. Il ne donne pas l'indication bibliographique du travail où il aurait consigné ses remarques; n'ayant pu retrouver ce travail, nous ne saurions

(1) E. COUVREUR et X. CHAHOVITCH: Contre les infections microbiennes chez les invertébrés (C. R. A. S., 2 mai 1921).

nous prononcer sur le bien-fondé de la réclamation de M. Paillot.

Mais dans la note où il la formule, il fait la critique des expériences que nous avons instituées et nous sommes obligés de répondre à cette critique.

I. — Il est bien entendu que nos recherches visent exclusivement *l'immunité naturelle* ; il ne nous semble pas que l'on ait suffisamment prouvé l'existence, chez les invertébrés, d'une *immunité acquise*, nous n'admettons donc pas, jusqu'à démonstration plus probante, l'existence *chez eux* d'*anticorps*. Nous ajoutons d'ailleurs que nos tentatives pour en provoquer l'apparition ont toujours été suivies d'insuccès.

II. — Nous n'avons nullement prétendu avoir découvert la destruction possible *in vitro* de micro-organismes par des humeurs et nous n'ignorons pas le pouvoir exercé par le sérum de quelques vertébrés vis-à-vis de certains microbes. Nous avons simplement constaté que ce pouvoir existe dans le sang et quelques autres liquides de certains invertébrés.

III. — Le mélange d'une culture de colibacille ou de bacille pyocyanique avec du sang d'escargot en vie estivale ou avec d'autres liquides (sucs digestifs) par nous expérimentés, est bien devenu stérile. Nous nous sommes assurés que les microbes étrangers pouvant être apportés par les liquides mis en usage et mélangés par conséquent à la culture des microbes choisis n'entravaient ni le virage du rouge neutre par le coli, ni la fluorescence du bouillon provoquée par la présence du bacille pyocyanique.

IV. — C'est parce que nous avons constaté *in vivo* la résistance des escargots et des vers à soie spécialement au stade de chrysalide à certains microbes que nous avons été amenés à chercher quelle pouvait être la cause de cette résistance

et à découvrir que le liquide sanguin et d'autres liquides, tels que les sucs digestifs, pouvaient jouer un certain rôle défensif. Il ne nous semble pas que cette constatation soit aussi peu en rapport avec la question générale de l'immunité que veut bien le dire M. Paillot ».

Or, cette réponse ne fut pas satisfaisante pour M. Paillot qui, dans une note publiée plus tard à la Société de Biologie, demanda la priorité de la découverte. Pour ne pas continuer une polémique *stérile*, nous avons répondu à cette note de M. Paillot par une notice parue dans les Comptes-Rendus de la Société de Biologie qui se résume ainsi :

« Nous ne ferons point de réponse à la note de M. Paillot (C. R. S. B., n° 19, 1921). Nous prierons seulement les lecteurs impartiaux de se reporter aux 2 notes de M. Paillot (C. R. A. S., 8 décembre 1919 et n° 9, 1921) et à notre propre note aux mêmes C. R. (n° 11, 1921). Ils verront alors si les conceptions de M. Paillot sont demeurées identiques et même analogues ».

En résumé, c'est à nous qu'appartient la découverte de l'immunité humorale extra-cellulaire préexistante chez les invertébrés. Les travaux de M. Paillot confirment les résultats obtenus par nous huit mois avant ses expériences.

CHAPITRE IV

L'immunité chez les crustacés.

Le second grand groupe des Arthropodes sur lesquels ont porté nos recherches est le groupe des crustacés, spécialement les Décapodes. Nos expériences ont porté sur les crabes et sur les écrevisses. Nous allons tout d'abord exposer nos recherches concernant les crabes, ensuite nous exposerons nos expériences effectuées sur les écrevisses.

I. — Recherches relatives à l'immunité contre les microbes chez le crabe.

Avant de commencer l'exposé de nos expériences, nous sommes obligé de donner quelques explications concernant les particularités spéciales que présentent les crabes lorsqu'ils se trouvent en dehors de l'eau de mer qui est leur milieu d'existence normal. Donc, pour avoir des animaux dans les meilleures conditions possibles d'existence, nous avons essayé de faire vivre les crabes dans une eau de mer artificielle que nous avons préparée d'après une formule, en faisant bien attention aux proportions de différentes subs-

tances qui entrent dans sa composition. Or, l'expérience nous a montré que les crabes ne pouvaient pas vivre dans cette eau artificielle. Donc nous n'avons pas pu réaliser les meilleures conditions de vitalité et nous fûmes obligé de recourir à un autre moyen qui pouvait nous donner des résultats satisfaisants. Nous avons simplement laissé les crabes en expérience en dehors de l'eau, couverts par des herbes de mer et, dans cette humidité particulière, nous avons pu nous rendre compte, en nous servant toujours de témoins, de l'action des substances injectées à l'animal. En moyenne, les crabes laissés normaux peuvent vivre cinq à six jours sans présenter des troubles dans les conditions sus-indiquées, ce qui a été très suffisant pour nos expériences.

Tout d'abord nous allons exposer nos recherches concernant la contamination des voies digestives, puis la contamination des voies respiratoires et enfin la contamination de la cavité générale : nous n'entrerons pas dans les mêmes détails que pour les écrevisses, cela nous conduirait à des répétitions inutiles.

a) Contamination par le tube digestif.

La technique que nous avons employée est décrite ailleurs. Le colibacille et le bacille pyocyanique sont nos agents d'infection.

Le problème se pose de la façon suivante : les crabes dont les voies digestives sont infectées par des microbes déterminés peuvent-ils résister à cette contamination ? Les expériences suivantes vont nous montrer comment se comporte l'animal ainsi infecté.

I. — AGENT DE CONTAMINATION : *le Colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — A l'aide d'une pipette on introduit dans la cavité buccale d'un crabe 0,5 cm³ d'une culture colibacillaire en bouillon liquide jeune et virulente. On prend un crabe témoin auquel on fait l'ingestion de la même quantité de bouillon liquide stérilisé.

Le jour de l'expérience, l'animal ne présente rien d'anormal. Cinq jours après, les crabes sont vivants et le sixième on les trouve morts, en même temps que d'autres animaux qui n'ont pas été expérimentés.

EXPÉRIENCE II. — A deux crabes on fait ingérer tous les jours 0,5 cm³ d'une culture colibacillaire de bouillon liquide, jeune et virulente.

Les animaux résistent très bien pendant six jours et le septième ils sont morts, non pas d'infection, mais des conditions défavorables d'existence.

De ces deux expériences et d'autres que nous n'allons pas citer, il résulte que les crabes résistent admirablement contre le colibacille lorsque celui-ci est ingéré.

2. — AGENT DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyanique.*

EXPÉRIENCE I. — A l'aide d'une pipette on introduit dans la cavité buccale d'un crabe 0,5 cm³ d'une culture de bacille pyocyanique jeune et virulente.

On a un crabe témoin qui n'est pas expérimenté.

Le jour de l'expérience, les crabes ne présentent rien d'anormal. Le cinquième jour ils sont vivants, le septième on les trouve morts.

EXPÉRIENCE II. — On infecte les voies digestives de crabes avec une culture de bacille pyocyanique tous les jours. Les crabes supportent admirablement cette contamination et ils sont morts le sixième jour comme les témoins.

Donc, de ces expériences, il résulte que les crabes résistent admirablement lorsqu'on leur infecte les voies digestives par des cultures vivantes de bacille pyocyanique.

Quel est le mécanisme de cette résistance ? Nous pouvons envisager plusieurs hypothèses comme dans les autres groupes où nous avons étudié la contamination des voies digestives. S'agit-il tout simplement d'une barrière méca-

nique infranchissable, sans action des liquides digestifs sur les microbes ? Ceux-ci sont-ils éliminés en même temps que les excréta ? S'agit-il d'une phagocytose par l'épithélium intestinal ou par les phagocytes émigrés dans les tissus intestinaux qui se chargent de détruire les microbes ? S'agit-il enfin de l'action directe des liquides digestifs sur les microbes ? Il se pose encore une autre question : que deviennent les toxines microbiennes ? Sont-elles neutralisées par les sucs digestifs ou bien absorbées et détruites dans le sein de l'organisme infecté ? Voilà les problèmes tels qu'ils se présentent et il s'agit maintenant de les résoudre en nous appuyant toujours sur l'expérimentation.

Tout d'abord, nous allons examiner le point suivant : Y a-t-il phagocytose des éléments microbiens par l'épithélium intestinal ou bien par les phagocytes émigrés ?

On a admis que la glande phagocytaire chez les crustacés décapodes est en rapport avec les artères hépatiques. Donc il est nécessaire de faire l'examen du foie (hépatopancréas), pour se rendre compte de la phagocytose par les éléments de l'organe phagocytaire.

EXPÉRIENCE I. — On ingère à deux crabes tous les jours pendant quatre jours 0,5 cm³ d'une culture colibacillaire jeune et virulente. Le quatrième jour, on sacrifie ces deux animaux et on leur prélève l'intestin moyen et la glande hépatique. On met les pièces dans le liquide fixateur.

A l'examen des coupes colorées au thionine phéniqué on ne peut pas déceler la présence des microbes dans les cellules épithéliales ni dans les tissus sous-épithéliaux. Nous remarquons qu'il n'y a pas d'éléments phagocytaires émigrés pour détruire les microbes. On a fait de nombreuses coupes, jamais nous n'avons décelé la présence d'éléments microbiens.

A l'examen de la coupe de la glande hépatique, on se rend parfaitement compte de l'inexistence de la phagocytose par les éléments glandulaires et par les éléments qui sont en rapport avec les artères hépatiques.

De ces examens, nous avons le droit de conclure que ce ne sont pas les phagocytes qui sont les éléments vainqueurs contre les microbes que nous avons employés.

Nous avons réalisé aussi des expériences en ce qui concerne le bacille pyocyanique, nous avons obtenu les mêmes résultats.

Donc, ce n'est pas dans la phagocytose qu'il faut chercher le mécanisme de la résistance des crabes. S'agit-il alors d'une barrière mécanique tout simplement sans action du liquide digestif ? Vu les résultats que nous avons obtenus avec le liquide digestif des écrevisses que nous allons exposer plus loin, il est probable que le liquide digestif des crabes possède les mêmes propriétés destructrices que le liquide digestif des écrevisses, mais l'expérimentation nous manque, car nous n'avons pas pu nous procurer une quantité suffisante de liquide digestif pour effectuer nos recherches *in vitro*. D'ailleurs, tous les résultats que nous avons obtenus sur les écrevisses concordent absolument avec ceux obtenus sur les crabes et nous sommes en droit de considérer les résultats comme communs aux deux espèces étudiées. Dans tous les cas, c'est un fait, à notre sens, extrêmement intéressant d'avoir constaté que les crabes qu'on nourrit exclusivement de cultures microbiennes, résistent admirablement et luttent efficacement contre ces éléments.

Le second problème qu'il faut résoudre est celui de savoir si les toxines sont absorbées telles quelles par l'intestin absorbant et la glande hépatique et neutralisées ensuite par les humeurs, ou bien si ces toxines sont déjà neutralisées ou détruites par le liquide digestif et ensuite absorbées. Le problème est très difficile à résoudre. On peut faire l'expérience suivante : on prend les liquides digestifs et on les mélange avec les toxines microbiennes, puis après un certain temps donné, on injecte ce mélange à l'animal dans la cavité générale. Or, l'expérience préalable nous a montré que l'injection des liquides digestifs seule est dangereuse,

puisque après l'injection de ces substances seules, l'animal meurt. Par conséquent, nous n'avons pas pu attaquer le problème de cette façon. Néanmoins, nous pourrions indirectement démontrer que les toxines sont détruites ou neutralisées par les sucs digestifs, et ceci en nous appuyant sur l'expérimentation.

Les toxines sont des produits solubles sécrétés par les éléments microbiens. En donnant à nos animaux des cultures microbiennes liquides (en bouillon), nous donnions en même temps que les corps microbiens, les produits sécrétés par ces corps dans le bouillon pendant leur développement. Après la digestion il y a absorption des produits solubles qui sont mélangés avec les toxines microbiennes et par conséquent il y a absorption de ces toxines. Sous quelle forme ces toxines sont-elles absorbées, nous ne pouvons pas répondre catégoriquement.

On peut se demander si les toxines sont absorbées telles quelles et ensuite neutralisées par les humeurs. On peut en tous cas se rendre compte si les toxines sont inoffensives lorsqu'on les injecte directement dans la cavité générale. Tout d'abord, il faut se rappeler que les microbes possèdent deux espèces de toxines : les *exotoxines*, c'est-à-dire les toxines sécrétées par le microbe, les toxines qui se diffusent en dehors du corps microbien, et puis les *endotoxines*, c'est-à-dire les toxines qui sont incluses dans le corps microbien lui-même. Comme nous allons le montrer plus loin, les crabes possèdent une immunité naturelle absolue contre les exotoxines des microbes employés, tandis qu'ils ne possèdent aucune immunité naturelle contre les endotoxines de ces mêmes microbes. Dans le premier cas, on pourrait nous répondre que les exotoxines sont absorbées telles quelles et neutralisées par les humeurs, mais dans le second cas que faut-il admettre ?

Nous n'avons pas fait des expériences spéciales avec les exotoxines, car cela n'est pas nécessaire, puisque l'animal résiste à ces toxines même lorsqu'on les inocule dans la cavité générale directement.

EXPÉRIENCE I. — On prépare les endotoxines en partant de cultures microbiennes colibacillaires sur gelose, c'est-à-dire en prélevant les corps microbiens vivants et en faisant une émulsion riche dans l'eau distillée. On place ces émulsions dans l'étuve à 56° pendant 4 heures. On s'assure que le microbe est tué par l'ensemencement de l'émulsion. Les microbes en agonisant laissent passer les endotoxines dans le milieu ambiant ainsi que la lyse des microbes, par conséquent nous avons des endotoxines. On fait ingérer de ces émulsions à des crabes tous les jours en quantité suffisante. Or, les crabes résistent très bien à cette contamination.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus mais en employant des émulsions du bacille pyocyanique. Les crabes résistent admirablement aussi à cette contamination.

Ces deux expériences prouvent d'une façon mathématique que les liquides digestifs des crabes neutralisent ou détruisent les endotoxines du colibacille et du bacille pyocyanique. Voilà donc un fait nouveau très intéressant au point de vue de l'immunité naturelle chez les crustacés décapodes.

b) Contamination par les voies respiratoires.

Dans le chapitre précédent, nous avons examiné le problème de la contamination des voies digestives et le mécanisme de résistance des animaux infectés. Il nous faut maintenant étudier le second problème, celui de la contamination des voies respiratoires et le mécanisme de l'immunité si elle existe.

Vu les conditions dans lesquelles se trouvaient les crabes au laboratoire, il nous a été impossible de leur donner une alimentation convenable, ni de les tremper dans une eau

contaminée pendant un certain temps. Nous nous sommes contenté d'infecter les voies respiratoires (branchies) en déposant sur elles nos microbes, agents de contamination.

I. — AGENT DE CONTAMINATION : *le colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On dépose sur les branchies de deux crabes, quelques gouttes de culture colibacillaire jeune et virulente, on laisse ces animaux en dehors de l'eau de mer et on les couvre avec des herbes de mer.

On a en même temps des témoins sur lesquels on fait l'expérience, mais en déposant des gouttes de bouillon liquide stérilisé. Les crabes vivent très bien pendant six jours et le septième tous sont morts, les infectés aussi bien que les témoins.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience sur d'autres crabes, en se servant aussi de témoins, mais en déposant tous les jours des gouttes de culture colibacillaire; de cette façon les branchies sont en état permanent de contamination.

Rien de particulier pendant les quatre premiers jours, le cinquième, tous les crabes sont morts.

De ces deux expériences et d'autres encore que nous ne citons pas, il résulte que les crabes dont les voies respiratoires sont infectées résistent à cette contamination.

II. — AGENT DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyanique.*

EXPÉRIENCE I. — On dépose quelques gouttes d'une culture de bacille pyocyanique âgée de 24 heures sur les branchies de deux crabes. On dépose quelques gouttes du bouillon liquide stérilisé sur les branchies de deux crabes témoins.

Les crabes ne présentent aucun phénomène morbide pendant cinq jours et le sixième tous sont morts, les témoins aussi bien que les crabes infectés.

EXPÉRIENCE II. — On dépose tous les jours sur les branchies de deux crabes, des gouttes de culture de bacille pyocyanique et sur deux autres crabes, on dépose des gouttes de bouillon liquide stérilisé. Les crabes ne présentent rien d'anormal pendant six jours et le septième sont morts.

Donc, ces expériences prouvent suffisamment que les crabes dont les voies respiratoires sont infectées par le bacille pyocyanique résistent admirablement à cette contamination.

En résumé, on peut conclure des expériences effectuées sur les branchies des crabes en nous servant des cultures colibacillaires et du bacille pyocyanique que les crabes supportent très bien cette contamination. Il faut maintenant chercher le mécanisme de la résistance.

Pourquoi les crabes résistent-ils ? Quels sont les moyens de défense que les crabes possèdent ? S'agit-il d'une résistance qui est due à ce qu'il y a une barrière mécanique ou bien s'agit-il d'un autre moyen qui est le *primum movens* de cette résistance ? La première idée qui vient à l'esprit, c'est de chercher s'il y a des microbes qui ont pénétré dans le tissu branchial et si c'est là qu'il y aurait la destruction des microbes : une phagocytose par l'épithélium branchial ou par les globules sanguins qui s'y trouvent. L'expérience suivante a été réalisée pour vérifier l'hypothèse émise ci-dessus.

EXPÉRIENCE I. — On infecte les branchies de deux crabes tous les jours en y déposant des gouttes d'une culture colibacillaire jeune et virulente. Le quatrième jour on sacrifie les animaux et on prélève les branchies que l'on place dans les liquides fixateurs.

L'examen des coupes nous a montré : absence de microbes dans les tissus branchiaux, les globules sanguins n'ont pas phagocyté les corps microbiens. Donc cet examen de nombreuses coupes nous prouve que ce n'est pas la phagocytose qui est le moyen de défense de nos animaux.

Nous avons fait la même expérience avec le bacille pyocyanique : elle nous a donné les mêmes résultats.

Alors, s'agit-il tout simplement d'une barrière mécanique ? Très probablement, c'est le seul moyen dans ces cas particuliers que possèdent ces animaux de lutter contre les infections microbiennes. Lorsqu'on se rappelle dans quel

milieu ils vivent normalement, on est frappé du fait suivant : le milieu ambiant n'est pas toujours aseptique. Il faut que leur épithélium branchial soit solide pour résister à ces attaques très souvent répétées. *Nous admettons que dans les cas d'immunité des crabes contre le colibacille et le bacille pyocyanique, le mécanisme de cette immunité réside dans la barrière mécanique ; il n'y a pas de passage des microbes du dehors en dedans.*

En déposant des gouttes de culture en bouillon liquide, nous déposons aussi forcément des toxines qui ont été déjà sécrétées par le microbe. Quel est le sort de ces toxines ? Y a-t-il absorption par l'épithélium respiratoire ? N'ayant pas fait d'expériences pour savoir si l'épithélium branchial possède la propriété d'absorber toutes les substances liquides, nous ne pouvons pas donner de réponse nette sur la possibilité d'absorption des toxines déposées sur les branchies. Pour les exotoxines, il est inutile de chercher, car nous avons démontré qu'elles sont détruites par l'animal, mais en ce qui concerne les endotoxines, si elles étaient absorbées elles auraient déterminé la mort de l'animal. Tout prouve que l'épithélium branchial n'est qu'une barrière qui s'oppose au passage des substances nuisibles à l'animal.

c) Contamination par la cavité générale.

Il nous reste, pour être complet, à relater nos recherches relatives à l'immunité proprement dite, c'est-à-dire étudier le sort des animaux inoculés dans la cavité générale avec différents microbes. Là aussi, nos agents de contamination étaient : le bacille pyocyanique et le colibacille.

A. — AGENT DE CONTAMINATION : *le colibacille*.

EXPÉRIENCE I. — On inocule 0,3 cm³ d'une culture colibacillaire vivante à un crabe. On le laisse en dehors de l'eau, couvert par des herbes de mer. On inocule la même quantité de bouillon liquide stérilisé à un autre crabe nous servant de témoin.

Le lendemain le crabe injecté avec du colibacille est mort, le témoin est vivant.

EXPÉRIENCE II. — On injecte 0,1 cm³ d'une culture colibacillaire jeune et virulente à un crabe dans la cavité générale entre les anneaux. Le lendemain le crabe est mort.

EXPÉRIENCE III. — On injecte 0,1 cm³ d'une culture colibacillaire, mais diluée à 1 % à un crabe. Le lendemain, le crabe est vivant mais très malade. Le surlendemain il est mort.

Donc, ces expériences nous prouvent que les crabes ne possèdent aucune immunité naturelle contre les colibacilles lorsque ceux-ci sont injectés directement dans la cavité générale.

B. — AGENT INOCULÉ : *le bacille pyocyanique*.

EXPÉRIENCE I. — On inocule 0,5 cm³ d'une culture de bacille pyocyanique à un crabe dans la cavité générale. Le jour de l'expérience, dans l'après-midi, le crabe est malade. Le lendemain le crabe est mort.

EXPÉRIENCE II. — On injecte 0,3 cm³ d'une culture de bacille pyocyanique dans la cavité générale d'un crabe. Le lendemain le crabe est mort.

EXPÉRIENCE III. — On injecte 0,1 cm³ d'une culture de bacille pyocyanique jeune et diluée à 1 % à un crabe dans la cavité générale. Le lendemain le crabe est mort.

Donc, les crabes ne possèdent aucune immunité naturelle contre la culture du bacille pyocyanique lorsque celui-ci est injecté directement dans la cavité générale.

Que deviennent les microbes injectés ? Y a-t-il phagocytose si légère soit-elle ? Nous avons cherché dans quelques expériences le sort de nos microbes inoculés de la façon

suivante : on examinait le sang une heure après l'injection, quelques heures après l'injection et le lendemain. Sur les frottis colorés et par la coloration vitale, nous ne décelons pas de microbes phagocytés.

Dans une culture microbienne complète on a non seulement des corps microbiens vivants, mais aussi des toxines sécrétées par ces éléments. Il aurait été logique de se rendre compte si les toxines sont elles aussi nuisibles et si seules elles suffiraient pour déterminer la mort de l'animal. Donc, nous-même avons cherché si les toxines sécrétées par les microbes inoculés à des crabes déterminent la mort ou bien si elles sont détruites par l'animal, d'où résultera sa résistance. Voyons d'abord ce que deviennent les animaux inoculés avec des exotoxines.

EXPÉRIENCE I. — On inocule à un crabe 0,2 cent³ de filtrats de cultures colibacillaires âgées de 5 jours. Le crabe résiste admirablement et meurt seulement le septième jour, en même temps que les crabes témoins.

Dans une autre expérience, nous avons inoculé jusqu'à 0,5 à 0,7 cent³ de filtrats et les animaux ne se portent pas plus mal pour cela. *Il est donc très net que les crabes possèdent une immunité antiexotoxique remarquable vis-à-vis des exotoxines du colibacille.*

EXPÉRIENCE II. — Au lieu d'employer des exotoxines colibacillaires, nous avons employé des exotoxines du bacille pyocyanique. Les doses inoculées sont les mêmes *et les crabes présentent la même immunité antitoxique que vis-à-vis des exotoxines colibacillaires.* Voilà donc un fait nouveau : *l'existence d'immunité antiexotoxique vis-à-vis des exotoxines colibacillaires et du bacille pyocyanique.*

Il s'agit maintenant de chercher si les crabes présentent la même immunité naturelle vis-à-vis des endotoxines. Les expériences ci-dessous vont nous éclairer sur ce point particulier.

EXPÉRIENCE I. — On inocule des endotoxines préparées de la façon indi-

quée ailleurs, une quantité de 0,5 cent³ dans la cavité générale d'un crabe (colibacille). Le lendemain, l'animal est mort.

EXPÉRIENCE II. — On inocule non plus 0,5 cent³, mais 0,2 cent³. Le lendemain, l'animal inoculé est malade et le surlendemain il est mort. Même dans d'autres expériences où on a inoculé seulement 0,1 cent³ et moins, l'animal est mort.

Dans d'autres séries d'expériences, nous avons employé des endotoxines du bacille pyocyanique ; les résultats sont les mêmes, c'est-à-dire absence d'immunité antitoxique vis-à-vis des endotoxines.

Voilà donc une séparation très nette entre les réactions de l'animal et les toxines injectées ; *l'animal résistant aux exotoxines et succombant aux endotoxines.*

Voyons maintenant s'il est possible d'immuniser les crabes contre les microbes que nous avons expérimentés. Nous avons employé différents procédés d'immunisation. Dans aucun cas nous n'avons pu immuniser les animaux. Nous nous dispensons de relater toutes nos expériences, nous nous contenterons seulement d'une où nous avons essayé d'immuniser les crabes avec les exotoxines.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux crabes 0,5 cent³ de filtrat colibacillaire. Le deuxième jour on injecte à ces mêmes crabes 0,1 cent³ d'une culture vivante colibacillaire. Le deuxième jour, après la seconde injection, les crabes sont morts.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à deux crabes 0,5 cent³ de filtrat colibacillaire. On injecte la deuxième fois, deux jours après, des endotoxines colibacillaires. Le deuxième jour, après la seconde injection, les crabes sont morts.

Dans d'autres expériences, nous nous sommes servi du bacille pyocyanique ; les résultats ont été identiques : impossibilité d'immuniser les crabes contre les microbes et leurs endotoxines.

L'immunité chez les écrevisses.

Les écrevisses appartiennent au groupe des décapodes, comme les crabes. Avec ces deux espèces d'animaux où les résultats expérimentaux concordent, nous espérons pouvoir tirer des conclusions générales sur l'immunité contre les infections microbiennes dans le groupe des crustacés décapodes.

Il faut s'entourer de beaucoup de précautions en expérimentant sur les écrevisses. Nous avons rappelé ailleurs, dans le chapitre des techniques, que très souvent sans avoir expérimenté sur elles, on a une mortalité considérable, ce qui tient à des épidémies dont ces animaux sont très souvent atteints. Néanmoins, en nous plaçant dans des conditions convenables, c'est-à-dire en plaçant les écrevisses dans l'eau courante, on évite souvent ces épidémies mortelles. Ainsi, nous avons pu garder plus de trois mois des écrevisses sans qu'elles présentent de troubles morbides. Nous avons rappelé aussi ailleurs qu'il faut faire des injections avec des aiguilles très fines, afin que la piqûre ne réalise pas un gros trou par lequel se ferait une pénétration d'eau dans l'intérieur du thorax de l'animal.

Nos expériences ont porté comme ailleurs sur les contaminations des voies digestives, des voies respiratoires et de la cavité générale. Nos principaux agents de contamination étaient les colibacilles et les bacilles pyocyaniques.

I. — Contamination par les voies digestives.

Nous ne possédons pas des notions précises sur la pré-

sence normale des microbes dans le tube digestif des écrevisses. D'ailleurs, les recherches sur ces points sont peu nombreuses et il serait très intéressant, au point de vue biologique, de savoir si normalement on trouve des microbes dangereux pour l'animal dans son tube digestif. Nous avons eu tort de ne pas avoir cherché ce point, mais craignant d'être entraîné trop loin, nous avons volontairement laissé de côté ce problème et nous nous proposons de le reprendre ultérieurement.

Nous allons exposer tout d'abord les expériences effectuées avec les bacilles pyocyaniques, ensuite nous exposerons celles effectuées avec les colibacilles.

1. — AGENT DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyanique*

EXPÉRIENCE I. — On dépose quelques gouttes d'une culture de bacille pyocyanique dans la cavité buccale d'une écrevisse grosse et bien vigoureuse. On voit disparaître sous ses yeux les gouttes déposées et ainsi nous sommes certains que la contamination est réalisée.

Le même jour, on s'aperçoit que l'écrevisse présente quelques phénomènes morbides consistant en une paresse très marquée. Le lendemain, elle est vivante (on remarque quelques-unes des normales qui sont mortes ; sans doute le lot a été infecté avant notre expérimentation). Le deuxième jour, elle est toujours vivante. Le huitième jour, elle vit toujours, nous la sacrifions pour examiner le sang au point de vue microbien. L'examen microscopique du sang ne nous a pas révélé la présence des microbes.

EXPÉRIENCE II. — On dépose quelques gouttes d'une culture de bacille pyocyanique dans la cavité buccale d'une grosse écrevisse. L'écrevisse ne présente rien d'anormal pendant plus de quinze jours d'observation.

EXPÉRIENCE III. — A l'aide d'une pipette que l'on introduit dans la cavité buccale d'une écrevisse, on introduit 0,5 cent³ d'une culture en bouillon liquide du bacille pyocyanique.

Le jour de l'expérience, l'écrevisse ne présente rien d'anormal. Pendant plus de quinze jours d'observation, l'écrevisse se porte bien ; elle n'a jamais présenté de phénomènes morbides.

EXPÉRIENCE IV. — On introduit, à l'aide d'une pipette, tous les jours, à

une écrevisse 0,5 cent³ d'une culture de bacille pyocyanique jeune et virulente. L'écrevisse ne présente rien d'anormal pendant plus de trois semaines : ensuite elle est sacrifiée.

Nous avons le droit de conclure, d'après ces expériences, que l'écrevisse présente une résistance remarquable contre le bacille pyocyanique lorsque celui-ci est introduit dans la cavité digestive de cet animal.

2. — AGENT DE CONTAMINATION : le colibacille.

EXPÉRIENCE I. — On dépose sur la cavité buccale de deux écrevisses quelques gouttes d'une culture de colibacille jeune et virulente. Le jour de l'expérience, les écrevisses ne présentent rien d'anormal. Les jours suivants, elles se portent très bien et, au bout de quelque temps (plus de trois semaines), nous les avons volontairement sacrifiées.

EXPÉRIENCE II. — A l'aide d'une pipette, nous avons introduit dans la cavité buccale d'une écrevisse 0,5 cent³ d'une culture colibacillaire jeune et virulente. Ainsi, nous étions certains que la contamination était réalisée et surtout nous étions certains d'une contamination massive.

Le jour de l'expérience et les jours suivants, l'écrevisse n'a pas présenté de phénomènes morbides et elle fut sacrifiée deux semaines après la contamination.

EXPÉRIENCE III. — A l'aide d'une pipette, nous introduisions tous les jours à une écrevisse 0,5 cent³ d'une culture colibacillaire jeune et virulente. L'écrevisse résista admirablement à cette contamination et fut sacrifiée deux semaines après.

Donc, les expériences ci-dessus prouvent d'une façon mathématique que les écrevisses possèdent une résistance particulière contre le colibacille lorsque celui-ci est ingéré par ces animaux.

Nous remarquons qu'en faisant nos expériences ci-dessus, nous introduisions en même temps que les microbes, des toxines microbiennes qui ont été déjà sécrétées par ces éléments microbiens dans leur milieu nutritif de développement. Par conséquent, nous avons le droit d'énoncer une seconde proposition : *les écrevisses possèdent une immunité remarquable contre les toxines colibacillaires et du bacille*

pyocyanique lorsque ces toxines sont ingérées par ces animaux.

Ces propositions déduites de premières expériences doivent être maintenant expliquées et vérifiées par une nouvelle expérimentation. Nous ne connaissons pas un seul animal qui, ayant une nourriture exclusivement microbienne, puisse résister admirablement. Il est très dangereux pour un être humain de boire une eau contaminée de bacille typhique ou du colibacille. Les épidémies ne sont-elles pas dues à l'ingestion des eaux contaminées ? Nous sommes frappé par cette résistance extraordinaire des écrevisses, dont il nous faut expliquer le mécanisme.

Plusieurs hypothèses sont à envisager : tout d'abord on peut supposer que ce sont les liquides digestifs qui sont capables de détruire les éléments microbiens et de neutraliser ou détruire les toxines sécrétées par ces microbes et de cette façon l'animal est mis à l'abri de l'infection et résiste très bien. On peut supposer aussi qu'il s'agit d'une phagocytose par les éléments cellulaires intestinaux ou bien par les phagocytes émigrés dans les tissus intestinaux et ainsi, par suite de la destruction des microbes et des toxines, l'animal ne doit présenter aucun phénomène anormal. Enfin, une troisième hypothèse est à envisager : c'est celle d'une barrière mécanique de la part de l'épithélium intestinal pour les toxines et les microbes et alors forcément les microbes ne faisant qu'un passage à travers la filière digestive, ne deviennent pas nocifs pour l'animal.

Examinons tout d'abord la seconde hypothèse, c'est-à-dire celle de la destruction des microbes et des toxines par l'épithélium intestinal ou bien par les éléments émigrés dans le tissu intestinal. Pour répondre à cette hypothèse, nous avons institué quelques expériences consistant à nourrir les

écrevisses pendant deux à trois jours, avec les cultures microbiennes, colibacillaire ou du bacille pyocyanique. Elles sont sacrifiées au bout de ce temps et on prélève la glande hépatique dans laquelle, d'après certains auteurs, se trouve collé à l'artériole hépatique l'organe phagocytaire. On prélève aussi l'intestin moyen qui est également la région absorbante du tube digestif de l'animal. Les pièces étaient placées dans le liquide fixateur et après qu'elles avaient subi la série des techniques nécessaires, nous pouvions examiner très attentivement les organes prélevés.

Tout d'abord examinons l'épithélium intestinal. Dans la cellule épithéliale elle-même, nous n'avons pas trouvé de microbes ni d'autres formations ressemblant à eux. On

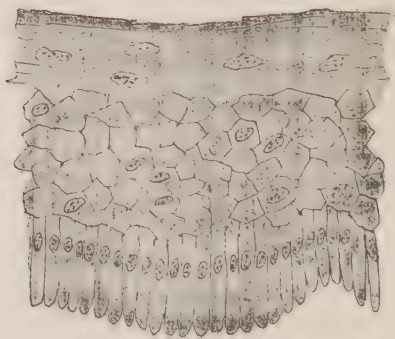


Fig. 5. — Intestin de l'écrevisse.

remarque les gros noyaux avec de nombreux nucléoles. Entre les éléments cellulaires, on ne trouve pas non plus de corps microbiens. Rien dans les autres parties constitutives de l'intestin. Nous insistons surtout sur le fait suivant : l'absence d'éléments émigrés, de phagocytes, qui seraient chargés de détruire les microbes (fig. 5).

Examinons maintenant les coupes de la glande hépatique.

Evidemment, dans nos recherches histo-physiologiques, nous n'étudiions pas la structure histologique des organes, nous nous contentions seulement de préciser le point qui nous intéressait plus particulièrement. Or, l'examen très attentif ne nous montre pas de microbes dans le foie, dans les cellules glandulaires et dans les espaces intercellulaires. Notre attention tout naturellement doit être portée sur les artérioles hépatiques avec lesquelles, d'après Cuénot, l'organe phagocytaire est en rapport. Nous ne voulons pas insister beaucoup sur les importants travaux de M. Cuénot, mais nous ne sommes pas de son avis lorsqu'il prétend qu'un organe qui phagocyte les poudres inertes, est forcément un organe défensif, destructeur de microbes. Nos coupes, en effet, ne montrent nulle part de microbes phagocytés dans la glande hépatique.

De ces recherches, nous tirons la déduction suivante : *il n'y a pas de phagocytose de la part des tissus intestinaux; il n'y a pas de phagocytes émigrés dans les tissus intestinaux; il n'y a pas de phagocytose par les éléments constituant la glande hépatique de l'écrevisse.* Nous remarquons que nos recherches ont été effectuées avec le colibacille et le bacille pyocyanique. Quant aux toxines, il est impossible d'après nos connaissances actuelles, de les mettre en évidence dans un tissu et, par conséquent, pour le moment nous sommes désarmés pour donner des précisions.

Dans la première hypothèse nous avons dit qu'il est possible que l'écrevisse résiste parce que les sucs digestifs possèdent la propriété de détruire les microbes. Il est relativement facile de résoudre ce problème en faisant agir les sucs digestifs sur les éléments microbiens. Les expériences basées sur cette hypothèse nous ont conduit à découvrir que les sucs digestifs détruisent les microbes et que c'était là

la clef du mécanisme de la résistance constatée. Nous nous bornons maintenant à relater nos expériences.

EXPÉRIENCE I. — On prélève sur plusieurs écrevisses des sucs digestifs; on les mélange (2 à 3 cent.³) avec une très petite quantité de colibacilles. On laisse le contact s'effectuer pendant 24 heures et on ensemence ensuite ce mélange dans un tube à bouillon liquide au neutral roth.

La culture, pendant plusieurs jours, ne vire pas au jaune canari.

EXPÉRIENCE II. — On prélève sur plusieurs écrevisses des sucs digestifs; on les mélange avec une certaine dose (0,1 cent.³) d'une culture colibacillaire jeune de 24 heures. On laisse ce mélange à la température du laboratoire pendant deux jours (48 heures). Au bout de ce temps, on ensemence le mélange dans un tube à bouillon au neutral roth et on le met à l'étuve à 37°.

Le lendemain, la culture est négative; nous n'avons pas le virage au jaune canari. Le deuxième jour, la culture reste négative.

On ensemence le mélange aussi le quatrième jour dans un tube à bouillon au neutral roth. La culture reste négative, il n'y a pas de virage au jaune canari.

Ces deux expériences nous prouvent suffisamment qu'il y a destruction des colibacilles par les sucs digestifs de l'écrevisse et ceci nous explique la résistance remarquable de cet animal contre le colibacille ingéré.

EXPÉRIENCE I. — On mélange des sucs digestifs de plusieurs écrevisses avec une petite quantité d'une culture de bacille pyocyanique. On laisse le contact s'effectuer pendant 48 heures et on ensemence ensuite ce mélange dans un tube à bouillon liquide ordinaire. Le tube est placé à l'étuve à 37°.

La culture reste négative, il n'y a aucune fluorescence le lendemain ni les jours suivants.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus, en augmentant seulement la quantité des microbes.

On ensemence le mélange au bout de 48 heures. La culture reste toujours négative, il n'y a aucune fluorescence.

Donc, les expériences ci-dessus démontrent d'une façon mathématique que les sucs digestifs des écrevisses détruisent les bacilles pyocyaniques, ce qui explique l'immunité de ces animaux contre les microbes lorsqu'ils sont ingérés par eux.

Ces expériences résolvent la question des éléments microbiens, mais il nous faut serrer le problème de plus près

pour savoir ce que deviennent les toxines. Comme nous allons le démontrer plus loin, lorsqu'on injecte directement dans la cavité générale de l'écrevisse une certaine quantité de toxines (exotoxines), l'animal résiste, possède une immunité naturelle, mais lorsqu'on lui injecte des endotoxines, l'animal meurt aussi vite qu'avec les injections des cultures vivantes.

Nous donnons aux écrevisses des exotoxines en même temps que les éléments microbiens, puisque nous employons des cultures en bouillon liquide complètes. Or, l'absorption des toxines doit se faire forcément en même temps que celle des autres substances absorbables. Sous quelle forme les exotoxines sont-elles absorbées? Question impossible à résoudre actuellement. Même si ces toxines (exotoxines) sont absorbées telles quelles, l'animal évidemment résistera puisque lorsqu'on les injecte directement dans la cavité générale, l'animal ne meurt pas. Comme nous allons le démontrer plus loin, les endotoxines, au contraire, sont très nocives et par conséquent, si nous donnions des endotoxines par les voies digestives et que l'animal ne mourut pas, ce serait alors une preuve décisive, montrant l'action des sucs digestifs sur ces endotoxines. L'expérience nous a amené à découvrir que les sucs digestifs détruisent ou neutralisent des endotoxines.

EXPÉRIENCE I. — On donne des endotoxines colibacillaires à l'aide d'une pipette, à trois écrevisses. (Les endotoxines sont préparées d'après le procédé décrit ailleurs.)

Les écrevisses ne présentent rien d'anormal pendant plus de dix jours d'observation quotidienne.

EXPÉRIENCE II. — On donne des endotoxines colibacillaires à deux écrevisses, tous les jours pendant une semaine. Les écrevisses ne présentent rien d'anormal pendant le temps d'observation.

EXPÉRIENCE III. — On fait ingérer des endotoxines du bacille pyocyanique à deux écrevisses, à chacune 1 cm³. Les écrevisses se portent très bien même 10 jours après l'expérience.

EXPÉRIENCE IV. — Même expérience que ci-dessus, mais en faisant ingérer à l'animal tous les jours des endotoxines. Dans ces conditions également l'animal ne présente aucun phénomène morbide.

Ces expériences et d'autres encore inédites nous démontrent que les sucs digestifs possèdent une propriété spéciale pour rendre inoffensives les endotoxines colibacillaires et du bacille pyocyanique, en les détruisant ou en les neutralisant.

II. — Contamination par les voies respiratoires.

Il est relativement facile de réaliser la contamination des voies respiratoires en plaçant les animaux dans des conditions spéciales, comme nous l'avons expliqué dans le chapitre des techniques. Nous avons effectué un certain nombre d'expériences qui doivent prouver les faits que nous allons énoncer. Toujours comme ailleurs nos agents de contamination sont les colibacilles et les bacilles pyocyaniques.

I. — AGENT DE CONTAMINATION : *le colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On verse dans un cristalliseur contenant 200 cm³ d'eau, plusieurs centimètres cubes d'une culture colibacillaire en bouillon liquide non diluée. On y place une écrevisse et on la laisse ainsi dans une eau contaminée pendant une heure. L'écrevisse étant ainsi dans une eau contaminée baigne forcément ses branchies. L'heure passée, on remet l'écrevisse dans un cristalliseur à eau courante.

L'animal, pendant tout le temps d'observation qui a duré plus de trois semaines, n'a pas présenté de phénomènes morbides.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus mais en laissant l'animal non pas une heure dans l'eau contaminée, mais pendant six heures.

Dans cette expérience l'animal a très bien supporté la contamination et n'a rien présenté d'anormal jusqu'au jour où il fut sacrifié.

EXPÉRIENCE III. — On répète l'expérience pour la troisième fois, mais en laissant l'animal non pas six heures, mais pendant 24 heures ; ensuite il est placé dans une eau courante. L'animal résiste et est sacrifié quelque temps après.

Donc, lorsqu'on contamine les branchies des écrevisses par une culture colibacillaire, elles résistent et ne présentent aucun phénomène morbide.

2. — AGENT DE CONTAMINATION : le bacille pyocyanique.

EXPÉRIENCE I. — On verse plusieurs centimètres cubes d'une culture de bacille pyocyanique dans un cristalliseur contenant 200 cm³ d'eau ordinaire. On y place une écrevisse et on la laisse pendant une heure dans cette eau contaminée. Au bout de ce temps on replace l'animal dans une eau courante.

L'animal ne présente aucun phénomène morbide pendant tout le temps d'observation et est sacrifié volontairement trois semaines après.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus en laissant l'animal, au lieu d'une heure, six heures dans l'eau contaminée, puis il est placé dans une eau courante.

Rien de particulier : l'animal résiste admirablement.

EXPÉRIENCE III. — On refait l'expérience en laissant l'animal pendant 24 heures dans l'eau contaminée par la culture du bacille pyocyanique, puis on le place dans une eau courante.

L'animal n'a présenté aucun phénomène morbide pendant plus de trois semaines d'observation.

Donc, les écrevisses dont on contamine les branchies par le procédé décrit plus haut avec du bacille pyocyanique résistent admirablement à cette contamination.

Quel est le mécanisme de cette résistance ? S'agit-il d'une barrière mécanique, la barrière étant représentée par l'épithélium branchial ? Ou bien s'agit-il d'une phagocytose par l'épithélium branchial et les globules sanguins qui y circulent.

Y a-t-il phagocytose par l'épithélium branchial ou bien par les éléments sanguins ? En réalisant l'expérience consis-

tant à laisser baigner les écrevisses dans des eaux fortement contaminées par les colibacilles et le bacille pyocyanique, puis à prélever et examiner les branchies à ces animaux, on arrive à se rendre compte que *la phagocytose est nulle et qu'il n'y a pas de passage de microbe dans le tissu branchial*. Donc, nous écartons l'hypothèse de la phagocytose et il nous reste à envisager l'hypothèse de *la barrière mécanique* réalisée par l'épithélium branchial. En effet, c'est la seule proposition que l'on peut admettre et nous admettons que dans les cas de résistance des écrevisses aux infections microbiennes, le mécanisme de cette résistance réside dans le fait suivant : *l'épithélium branchial est infranchissable par les microbes, ainsi que par les toxines microbiennes*.

III. — Contamination par la cavité générale.

Nous avons plus spécialement étudié cette question qui présente quelques particularités intéressantes. En effet, il s'agit de savoir si chez cette espèce où on n'a pas trouvé une immunité naturelle antimicrobienne, on peut l'immuniser contre les infections microbiennes. Nous nous sommes attaché aussi à préciser quelques points constatés chez le crabe, pour pouvoir tirer des conclusions générales relatives à l'immunité dans le groupe des crustacés décapodes. Nous espérons ainsi ajouter quelques faits nouveaux à cette question si intéressante de la science de l'immunité.

Nous nous sommes borné à expérimenter seulement deux espèces microbiennes : le colibacille et le bacille pyocyanique. On nous reprochera peut-être d'avoir expérimenté seulement avec ces deux espèces, mais on peut répondre à cette critique en rappelant la fragilité particulière de ces

animaux. En effet, on constate très souvent (et nous l'avons vu aussi) des épidémies qui ne sont pas dues au colibacille ni au bacille pyocyanique, mais à des microbes qui sont propres à ces animaux. Il suffit d'une petite plaie pour laisser pénétrer des agents microbiens et déterminer la mort.

Voyons tout d'abord ce qui se passe avec le colibacille, ensuite nous étudierons les réactions avec le bacille pyocyanique.

1. — AGENT DE CONTAMINATION : *le colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On inocule à deux écrevisses 0,5 cm³ d'une culture colibacillaire jeune et virulente. On injecte à deux témoins 0,5 cm³ du bouillon stérilisé. Les écrevisses sont placées à l'eau courante.

Dès l'après-midi du jour de l'expérience, les écrevisses sont très malades, et le soir à 6 heures les écrevisses injectées avec des microbes sont mortes, tandis que les témoins ne présentent rien d'anormal.

EXPÉRIENCE II. — On inocule à deux écrevisses bien vigoureuses et grosses 0,2 cm³ d'une culture jeune colibacillaire. Le jour de l'expérience, les écrevisses ne présentent rien d'anormal, mais le lendemain elles sont tournées sur leur dos, apathiques, marchent difficilement et répondent aux excitations mécaniques très faiblement. Le surlendemain on les trouve mortes.

EXPÉRIENCE III. — On inocule à deux écrevisses bien vigoureuses et grosses 0,1 cm³ d'une culture jeune colibacillaire. Les écrevisses n'ont pas résisté et sont mortes le deuxième jour.

Donc ces trois expériences prouvent que les écrevisses ne présentent aucune immunité naturelle contre les colibacilles lorsqu'ils sont inoculés dans la cavité générale.

2. — AGENT DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyanique.*

EXPÉRIENCE I. — On inocule à deux écrevisses 0,5 cm³ d'une culture du bacille pyocyanique jeune et virulente. A deux écrevisses témoins on injecte le bouillon stérilisé.

Le jour même de l'expérience, les deux écrevisses sont mortes. On remarque que immédiatement après l'inoculation les écrevisses semblent souffrir.

EXPÉRIENCE II. — On inocule à deux écrevisses 0,2 cm³ d'une culture du bacille pyocyanique virulente. Le soir de l'expérience, les écrevisses sont malades, le lendemain on les trouve mortes.

EXPÉRIENCE III. — On inocule à deux écrevisses grosses et vigoureuses 0,1 cm³ d'une culture virulente du bacille pyocyanique. Les écrevisses sont mortes le lendemain.

Donc, les écrevisses ne possèdent aucune immunité naturelle antimicrobienne contre le bacille pyocyanique lorsque celui-ci est injecté directement dans la cavité générale de ces animaux. Nous remarquons que le bacille pyocyanique est plus virulent pour les écrevisses que le colibacille. Ce fait a été vérifié dans beaucoup d'expériences et avec d'autres espèces animales appartenant à d'autres groupes zoologiques.

Ces premières expériences prouvent tout d'abord le fait suivant : *pas d'immunité naturelle antimicrobienne chez les écrevisses.* Pénétrons plus profondément dans le sujet et voyons ce qui se passe dans le sein de l'organisme infecté.

La première idée qui vient, c'est de voir si on trouve des microbes qui sont phagocytés par les globules sanguins. Nous ne parlerons pas de la structure et des variétés de globules sanguins. Nous renvoyons le lecteur aux travaux des auteurs qui se sont occupés de ces problèmes, nous retenons seulement qu'on a décrit des globules qui phagocytent des particules étrangères. Ces phagocytes sont des éléments jeunes ne présentant pas de granulations.

Reprenons nos expériences et voyons ce que deviennent les globules sanguins. Chez une écrevisse injectée avec des colibacilles ou des bacilles pyocyaniques, si on fait l'examen microscopique au bout de quelques heures, on remarque que le nombre des globules a diminué dans des proportions assez grandes et, fait plus intéressant, on ne constate aucune

phagocytose microbienne. De plus, on remarque que beaucoup de globules, surtout ceux présentant des granulations, sont désagrégés. Comme nous le montrons dans les figures

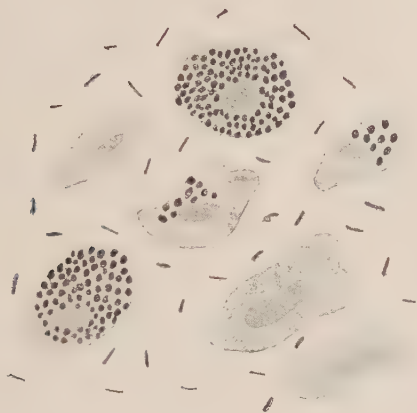


Fig. 6. — Sang de l'écrevisse une heure après l'injection des colibacilles.



Fig. 7. — Sang de l'écrevisse six heures après l'injection des colibacilles.

(6, 7) ci-contre, on remarque des granulations qui se séparent les unes des autres. On dirait que, sous l'influence de l'infection microbienne, la membrane qui limite est déchirée et

laisse sortir des granulations, la cohésion cellulaire est rompue. On pourrait dire aussi que l'équilibre coloïdal du milieu intérieur entre les globules et le plasma est rompu et il y a des troubles se montrant aux yeux par le phénomène de désintégration globulaire. Ces figures sont obtenues avec des bacilles coli aussi bien qu'avec les bacilles pyocyaniques.

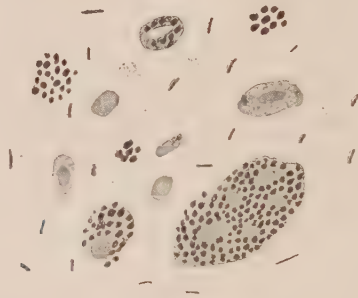


Fig. 8. — Sang de l'écrevisse six heures après l'injection de 0,5 cm³ d'une culture du bacille pyocyanique.

Donc, sous l'influence des injections microbiennes (colibacille, pyocyanique) il n'y a pas de phagocytose de la part des globules sanguins ; il y a diminution du nombre des globules qui est due à la désintégration cellulaire.

Au cours des ponctions pour avoir du sang à examiner, nous nous sommes aperçu d'un fait nouveau qui n'est pas moins intéressant : c'est le trouble de la coagulation sanguine consistant en un retard manifeste de la coagulation. Cette remarque nous a incité à vérifier nos constatations et, en effet, nous avons vu un retard de la coagulation à la suite de l'inoculation microbienne et plus particulièrement à la suite de l'inoculation du bacille pyocyanique. Ceci nous prouve qu'il y a des troubles métaboliques très grands à la suite des injections microbiennes, troubles qui se manifestent par ces constatations intéressantes.

Toutes ces constatations sont faites à la suite de l'inoculation des cultures complètes vivantes, c'est-à-dire : le microbe avec ses toxines secrétées par lui dans son milieu de développement. Il a été logique de faire une analyse plus détaillée, c'est-à-dire de séparer l'action du microbe de ses exotoxines et de ses endotoxines. Or, l'expérience nous a montré des particularités intéressantes qui nous auraient échappé si on se contentait de faits globaux.

On se procure des exotoxines en filtrant des cultures en bouillon liquide, âgées de cinq à six jours. On sait que les microbes sécrètent des toxines, au moins le colibacille et le bacille pyocyanique, que l'on peut séparer des éléments microbiens en filtrant des cultures complètes. Avec ces filtrats, nous avons effectué nos expériences.

A. — FILTRATS DES CULTURES COLIBACILLAIRES

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux écrevisses de taille moyenne (pesant de 10 à 12 grammes) 0,2 cm³ à chacune des filtrats colibacillaires. Le jour de l'expérience, les écrevisses ne présentent rien d'anormal, ainsi que les jours suivants.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à deux écrevisses de grosse taille (15 à 17 grammes) 0,3 cm³ de filtrat colibacillaire. Les écrevisses ne présentent rien d'anormal pendant une dizaine de jours. Après ce temps elles sont sacrifiées.

EXPÉRIENCE III. — On injecte à deux écrevisses 0,5 cm³ de filtrats colibacillaires. Les écrevisses ne présentent aucun phénomène morbide pendant tout le temps d'observation, plus d'une semaine.

Donc, ces expériences montrent que les écrevisses possèdent une immunité antiexotoxique très marquée contre les exotoxines du colibacille.

B. — FILTRATS DES CULTURES DU BACILLE PYOCYANIQUE

EXPÉRIENCE I. — On injecte 0,2 cm³ de filtrats du bacille pyocyanique à deux écrevisses bien vigoureuses (0,2 cm³ à chacune). A la suite de cette inoculation, nous constatons que les écrevisses ne présentent rien d'anormal pendant plus d'une semaine, le temps qu'a duré notre observation.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à deux écrevisses 0,3 cm³ des filtrats du bacille pyocyanique (0,3 cm³ à chacune). Les écrevisses supportent très bien ces doses.

EXPÉRIENCE III. — La même que ci-dessus en employant une dose plus forte, 0,5 cm³. Les animaux ont résisté à ces doses.

Donc, les écrevisses présentent une immunité antiexotoxique naturelle remarquable vis-à-vis des exotoxines du bacille pyocyanique.

Voilà donc un fait nouveau : existence d'une immunité naturelle antiexotoxique contre les exotoxines du bacille pyocyanique et du colibacille.

Voyons maintenant ce qui se passe avec les endotoxines colibacillaires et du bacille pyocyanique.

A. — ENDOTOXINE COLIBACILLAIRE

EXPÉRIENCE I. — On inocule à deux écrevisses grosses (17 gr.) et vigoureuses 0,5 cm³ des endotoxines colibacillaires. Le jour de l'expérience, les écrevisses tournent facilement sur leur dos et se relèvent très difficilement. Le lendemain elles sont très malades et le surlendemain elles sont trouvées mortes dans les aquariums. Les témoins sont vivantes.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus en employant seulement une dose moins grande, 0,3 cm³. Les écrevisses ne peuvent pas résister et meurent.

EXPÉRIENCE III. — On inocule encore une plus petite quantité, 0,1 cm³, les écrevisses ne résistent pas.

Donc, pas d'immunité naturelle antiendotoxique.

B. — ENDOTOXINE DU BACILLE PYOCYANIQUE

EXPÉRIENCE I. — On inocule à deux écrevisses grosses (17 à 19 grammes) et vigoureuses 0,5 cm³ des endotoxines du bacille pyocyanique. Le jour de l'expérience les écrevisses sont très malades et le lendemain elles sont mortes. Les témoins sont vivantes.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus en employant seulement une dose moins grande, 0,2 cm³. Les écrevisses meurent et ne résistent pas.

EXPÉRIENCE III. — Dans cette expérience on emploie une dose encore plus petite, 0,1 cm³. Les écrevisses meurent le deuxième jour après l'inoculation.

Donc, pas d'immunité naturelle antiendotoxique.

Deux faits complètement opposés : d'une part l'existence d'une immunité naturelle antiexotoxique et d'autre part l'absence d'une immunité naturelle antiendotoxique. Cette séparation est très importante pour pénétrer plus profondément dans le problème si complexe de l'immunité, problème que nous ne prétendons pas avoir complètement résolu.

ESSAIS D'IMMUNISATION. — En présence des résultats auxquels nos recherches ont abouti, il était intéressant de tenter l'immunisation. Nous avons employé les différents procédés : la culture tuée à 100°, les doses minimales des cultures très vieilles, l'injection des exotoxines. Dans d'autres cas, nous avons employé des moyens indirects, c'est-à-dire que des écrevisses qui étaient nourries avec des cultures pendant un certain temps, sont ensuite injectées. Dans d'autres cas, nous avons préparé des écrevisses en les infectant par les voies respiratoires, puis on les inocule dans la cavité générale. *Dans tous ces cas, nous n'avons jamais pu obtenir une immunité acquise. jamais nous n'avons constaté même un léger retard de la mort.* Nous n'allons pas donner le compte-rendu de nos expériences qui serait un peu long, nous nous contenterons seulement de relater deux expériences où nous avons tenté l'immunisation avec les exotoxines.

EXPÉRIENCE I. — On inocule à deux écrevisses 0,5 cm³ de filtrat des cultures colibacillaires. Le deuxième jour après cette inoculation, on inocule à ces deux écrevisses 2 cm³ de la culture complète colibacillaire. Les animaux sont morts le deuxième jour après la seconde inoculation.

EXPÉRIENCE II. — La même que ci-dessus, mais en injectant la seconde fois sept jours seulement après la première injection. La mort est survenue le deuxième jour.

EXPÉRIENCE III. — On inocule à deux écrevisses 0,5 cm³ de filtrat de culture du bacille pyocyanique. Le deuxième jour on inocule 0,2 cm³ de la culture complète du bacille pyocyanique. Les animaux sont trouvés morts le lendemain.

EXPÉRIENCE IV. — La même que ci-dessus en faisant la seconde injection une semaine après la première. La mort des animaux arrive le deuxième jour après la seconde injection.

Donc, pas de possibilité d'immuniser les écrevisses contre les colibacilles et les bacilles pyocyaniques.

CHAPITRE V

L'immunité chez les Mollusques.

Comparativement à nos recherches sur l'immunité chez les crustacés et chez les insectes, nous avons fait des expériences relatives à l'immunité des mollusques. Nos expériences ont porté sur deux espèces : *Hélix pomatia* et *Anodonta*. *Hélix* appartient au groupe des Gastéropodes et *Anodonta* au groupe des Lamellibranches. En ce qui concerne nos expériences sur les Anodontes, elles sont peu nombreuses ; nous avons reproduit seulement les expériences types ; par contre, l'*Hélix pomatia* a été étudié avec plus de détails. Nous regrettons de n'avoir pas étudié d'autres espèces appartenant au groupe des mollusques. Il nous a été difficile de les avoir, surtout des espèces appartenant aux mollusques marins. Donc, le type le plus étudié fut l'*Hélix* pour deux raisons : la facilité avec laquelle on peut se procurer ces animaux en toute période de l'année et leur vie particulière. L'*Hélix pomatia* est un animal qui passe par deux périodes pendant une année. C'est un animal qui pendant tout l'hiver, jusqu'au mois de mai, est en vie très ralentie, puis, à partir de ce moment, il se réveille et se rendort au mois de novembre ou au début de décembre. La physiolo-

gie de ces deux périodes n'est pas la même. Les concentrations moléculaires des humeurs ne sont pas les mêmes. Donc, il a été absolument nécessaire de faire des expériences sur les animaux pendant ces deux périodes, ce qui nous a d'ailleurs conduit à découvrir des faits très intéressants.

Recherches personnelles concernant l'immunité chez l'Hélix pomatia.

A. — HÉLIX EN HIBERNATION.

En étudiant l'immunité chez les crustacés ou chez les insectes, nous avons pu effectuer trois ordres de recherches :

1° Sur les voies digestives ; 2° sur les voies respiratoires, et 3° sur la cavité générale. Or, en étudiant l'immunité chez l'Hélix en hibernation, un seul ordre de recherche est possible : c'est l'immunité proprement dite du milieu intérieur.

Les animaux employés sont choisis parmi ceux qui présentent leurs opercules, c'est-à-dire ceux qui sont en sommeil. Au moment où nous avons voulu faire nos injections, on réveillait les animaux par le procédé suivant : atmosphère humide (évaporation d'eau) et température $+ 18^{\circ}$ à $+ 20^{\circ}$. Au bout d'une ou deux heures, les animaux sont réveillés et grimpent sur la cloche. Après les injections, les Hélix sont placés à la température du laboratoire dans les conditions normales d'existence.

Les agents de contamination sont : le bacille pyocyanique et le colibacille.

1. — AGENT DE CONTAMINATION : *le colibacille*.

Nous avons employé des filtrats de cultures colibacillaires, des endotoxines et des cultures complètes.

EXPÉRIENCE I. — On injecte deux escargots avec des filtrats colibacillaires. On fait les injections dans le pied. La quantité injectée est de 0,2 cm³. Le lendemain un escargot est mort, l'autre ne présente rien d'anormal. Le quinzième jour, l'escargot est vivant.

EXPÉRIENCE II. — On injecte deux escargots avec des filtrats colibacillaires. La quantité injectée est de 0,5 cm³. Le lendemain, les escargots sont vivants. Quinze jours après ils sont vivants et ne présentent aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE III. — On injecte deux escargots avec des filtrats colibacillaires. La dose injectée est de 0,7 cm³. Les escargots ne présentent aucun phénomène morbide pendant plus de trois semaines d'observation.

De ces trois expériences, il résulte que l'Hélix en hibernation possède une immunité naturelle antitoxique remarquable contre les exotoxines colibacillaires.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux escargots des endotoxines colibacillaires (ces endotoxines sont préparées de la façon suivante : On prélève des corps microbiens vivants de plusieurs cultures en milieu solides et on les dilue dans du sérum physiologique. Cette émulsion est mise à l'étuve à 55° pendant 4 heures, puis le deuxième jour même séjour à l'étuve ; ainsi le microbe a perdu sa vitalité, mais ses endotoxines ne sont pas détruites). La dose injectée est de 0,2 cm³. Le jour de l'expérience, les escargots ne présentent rien d'anormal. Le lendemain ils sont vivants et ont reformé leurs opercules brisés le jour de l'expérience. Deux semaines après, ils sont toujours vivants et ne présentent aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à deux escargots des endotoxines colibacillaires. La dose injectée est de 0,5 cm³. Les animaux supportent très bien cette injection et résistent pendant longtemps après l'inoculation.

EXPÉRIENCE III. — La même que ci-dessus, sauf que l'inoculation est plus massive : 0,7 cm³. Cette dose colossale pour un animal qui ne pesait pas plus de 10 grammes, n'est pas nocive pour lui. En effet, les animaux n'ont présenté aucun trouble pendant plus de trois semaines qu'a duré l'observation.

Donc, l'Hélix pomatia possède une immunité naturelle antitoxique remarquable contre les endotoxines colibacillaires.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux hélix 0,2 cm³ d'une culture colibacillaire complète jeune et virulente. Les injections sont faites dans le pied. Le jour de l'expérience, les escargots ne présentent rien d'anormal, ainsi que les jours suivants.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à deux hélix une culture colibacillaire 0,5 cm³. Les animaux inoculés ne présentent aucun phénomène morbide pendant plus de trois semaines qu'a duré l'observation.

EXPÉRIENCE III. — La même que ci-dessus. La quantité inoculée fut de 0,7 cm³ pour chaque animal. Les hélix ne présentent aucun phénomène morbide pendant tout le temps d'observation.

Donc, l'Hélix en hibernation possède une immunité naturelle remarquable contre les colibacilles.

2. — AGENT DE CONTAMINATION : le bacille pyocyanique.

Ici aussi, nous avons employé des endotoxines, des exotoxines et des cultures complètes. Les résultats sont les mêmes.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux escargots des exotoxines du bacille pyocyanique (filtrat des cultures en bouillon liquide âgées d'une semaine). La dose injectée est de 0,2 cm³ pour chaque animal. Le jour de l'expérience les hélix ne présentent aucun phénomène morbide. Trois semaines après les animaux sont vivants.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à deux escargots des exotoxines du bacille pyocyanique. La dose injectée est de 0,5 cm³ pour chaque animal. Les escargots résistent admirablement à ces toxines et ne présentent aucun phénomène morbide pendant l'observation de plus d'un mois.

EXPÉRIENCE III. — On fait l'injection d'une dose de 0,7 cm³ pour chaque animal. Les animaux injectés ne présentent aucun phénomène morbide.

Donc, l'Hélix en hibernation possède une immunité naturelle antitoxique contre les exotoxines du bacille pyocyanique.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux escargots des endotoxines du bacille pyocyanique. La dose injectée est de 0,2 cm³ pour chaque escargot. Le jour de l'expérience, les hélix ne présentent aucun phénomène morbide. Quinze jours après, ils sont toujours vivants, sans présenter de troubles morbides.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à deux escargots des endotoxines du bacille pyocyanique. La dose injectée est de $0,7 \text{ cm}^3$ pour chaque escargot. Les animaux ne présentent aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE III. — La même que ci-dessus. La dose est de $0,7 \text{ cm}^3$ pour chaque escargot. Les animaux ont supporté ces injections.

Donc, l'Hélix possède une immunité naturelle antitoxique contre les endotoxines du bacille pyocyanique.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux escargots $0,2 \text{ cm}^3$ d'une culture complète et vivante du bacille pyocyanique. Les injections sont faites dans le pied. Le jour de l'expérience les escargots ne présentent rien d'anormal. Deux semaines après ils sont toujours vivants et ne présentent aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus, sauf que la dose fut $0,5 \text{ cm}^3$ pour chaque animal. Les Hélix ont résisté à cette inoculation.

EXPÉRIENCE III. — On fait l'injection d'une dose plus forte : $0,7 \text{ cm}^3$ pour chaque animal. Les animaux n'ont présenté aucun phénomène morbide.

Donc, l'Hélix en hibernation possède une immunité naturelle antimicrobienne remarquable contre les bacilles pyocyaniques.

Les expériences que nous avons relatées montrent tout d'abord un fait : c'est que l'Hélix en hibernation possède une immunité naturelle remarquable contre certaines cultures microbiennes. Il faut maintenant expliquer le mécanisme de cette immunité. Ce mécanisme fut étudié de différentes façons. Nous étions amené à étudier l'influence de certaines substances chimiotaxiques relatives à la phagocytose microbienne. Nous avons aussi étudié la phagocytose *in vivo* et *in vitro* et par ces recherches nous fûmes amené à étudier les opsonines. Comment l'animal se défend-il ? telle fut la question posée et il fallait imaginer les expériences pour donner une réponse conforme à la réalité des faits.

Avant d'entrer dans le vif du problème, nous avons pensé qu'il serait intéressant de savoir si l'inoculation des cultures microbiennes (du bacille pyocyanique et du colibacille) déterminait une variation du nombre de globules sanguins.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à plusieurs escargots 0,5 cm³ d'une culture du bacille pyocyanique. On saigne un animal le lendemain. La numération globulaire donne : 350 globules par mm³. Le deuxième jour ainsi que le troisième le chiffre n'a pas varié.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à plusieurs escargots 0,5 cm³ d'une culture du bacille pyocyanique. On saigne l'animal le lendemain et le surlendemain de l'injection. Le nombre des globules sanguins n'a pas varié.

Donc, après l'injection des cultures microbiennes, le nombre des globules sanguins d'Hélix ne varie pas ; par conséquent, il n'y a pas de destruction globulaire ni d'augmentation globulaire (réaction de l'animal).

Ce premier résultat fut pour nous une présomption sérieuse que ce ne sont pas les phagocytes qui luttent. On admet généralement qu'après l'injection des cultures microbiennes chez les animaux supérieurs, il y a augmentation des globules blancs. Or, comme nous l'avons vu, ce fait ne se constate pas chez l'Hélix en hibernation étudié par nous.

Que deviennent les microbes injectés ? Voilà le point capital. Citons nos expériences.

EXPÉRIENCE I. — On fait à trois Hélix des injections d'une culture colibacillaire. La dose injectée est de 0,5 cm³ pour chaque animal. On se propose d'examiner le sang de ces animaux ainsi inoculés, au bout de 24 heures, de 48 heures et de 96 heures. On en saigne un au bout de 24 heures. On constate par préparation un ou deux bacilles mobiles. Il faut faire de nombreuses préparations pour déceler quelques microbes. On fait des colorations vitales (rouge neutre) ainsi que des frottis que l'on colore avec du bleu de méthylène et le thionine. Un examen très attentif montre : *absence de microbes dans les leucocytes, donc pas de phagocytose*. On rencontre un ou deux microbes par préparation présentant la forme normale ; *pas de granulation extra-protoplasmiques et intra-protoplasmiques*. Cet examen démontre trois faits : il n'y a pas de développement microbien *in vitro* ; il n'y a pas de phagocytose ; on constate des bacilles mobiles avec leur forme normale (fig. 9).

On saigne un Hélix au bout de 48 heures. On fait les mêmes constatations que ci-dessus. Au bout de 96 heures, nous avons toujours les mêmes constatations.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à trois escargots 0,5 cm³ d'une culture du bacille pyocyanique. On saigne respectivement ces animaux au bout de

24 heures, de 48 heures, de 96 heures. Donc, le lendemain on saigne un animal. L'examen microscopique donne : présence de bacilles extrêmement rares (faire plusieurs préparations) pas de phagocytose, absence de granu-



Fig. 9. — Sang de l'escargot en hibernation, 24 heures après l'injection de 0,5 cm³ d'une culture colibacillaire.

lations extra et intra-protoplasmiques. Les animaux saignés au bout de 48 heures et 96 heures donnent les mêmes résultats.

Ces deux expériences et d'autres démontrent : que l'immunité d'Hélix n'est pas due à la phagocytose, que l'on décèle encore quelques bacilles dans le sang au bout de 96 heures et surtout on constate que les microbes ne se développent pas dans l'intérieur de l'animal. N'oublions pas que ces constatations sont faites chez l'Hélix en hibernation. Nous insistons sur ce point pour écarter une objection que nous allons discuter. L'expérience de Pasteur sur le choléra des poules et celle de J. Courmont et Doyon sur la tétanie des grenouilles prouvent que la température joue un grand rôle dans les phénomènes de l'immunité. Alors, est-ce que la température étant basse, puisque nous sommes en hiver, cela empêche le microbe inoculé de se développer ? Voilà une question à laquelle nous répondons par les expériences suivantes :

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux Hélix une certaine quantité d'une culture colibacillaire et à deux autres une certaine quantité d'une culture du bacille pyocyanique. On place ces animaux ainsi inoculés à l'étuve à 33°. Le lendemain, les animaux sont morts. D'après cette expérience, l'immunité constatée serait due à la température insuffisante pour le développement microbien. Mais voyons si les Hélix normaux peuvent vivre à une telle température.

EXPÉRIENCE II. — On place deux escargots normaux à l'étuve à 33°. Le lendemain, les animaux sont morts. Donc une température aussi élevée n'est pas sans danger pour les escargots en hibernation. Cette expérience permet de supposer que les animaux de l'expérience I sont morts parce que la température de 33° n'est pas supportée par eux.

Ces deux expériences nous obligeaient à laisser les animaux utilisés à la température du laboratoire (+ 18° à 20°). Cette température est très suffisante d'ailleurs pour le développement des colibacilles et des bacilles pyocyaniques.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux escargots 0,5 cm³ d'une culture colibacillaire et à deux autres 0,5 cm³ de la culture du bacille pyocyanique. Les animaux sont laissés à la température du laboratoire. Les Hélix résistent admirablement pendant deux semaines, puis sont sacrifiés. *Donc, l'immunité naturelle constatée est réelle et non pas apparente.* Nous remarquons que le sang prélevé chez ces animaux et examiné au microscope ne montre pas de pullulement microbien.

On avait prétendu que différents organes possèdent des éléments particuliers qui se chargeaient de phagocyter, de détruire les microbes. Parmi ces organes on cite le pied, l'hépatopancréas et le tissu pulmonaire, ou plutôt les éléments qui entourent les vaisseaux pulmonaires. Voyons si nous trouvons dans ces éléments anatomiques les microbes inoculés.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à deux Hélix 0,5 cm³ d'une culture colibacillaire. Le lendemain on en sacrifie un et le surlendemain l'autre. On prélève les pieds. Les coupes colorées au thionine phéniqué ne montrent pas de microbes dans les éléments de Leydig. Nous remarquons que nous avons fait de nombreuses préparations et aucune ne nous a montré des microbes phagocytés.

EXPÉRIENCE II. — Au lieu de la culture colibacillaire, on a employé une culture du bacille pyocyanique. Les résultats sont identiques, c'est-à-dire absence de phagocytose par les tissus du pied.

Donc, ce ne sont pas les cellules de Leydig qui défendent activement l'animal inoculé.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à plusieurs Hélix, soit des bacilles pyocyaniques, soit des colibacilles. On prélève l'hépatopancréas au bout de 24, 48 et 72 heures. De nombreuses coupes n'ont pas montré non plus de microbes phagocytés par les cellules glandulaires, ni par les éléments entourant les artérioles.

Donc, ce n'est pas l'hépatopancréas qui défend l'animal par l'acte de phagocytose. Avec des bacilles coli et pyocyaniques, les résultats sont les mêmes.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à plusieurs escargots des cultures colibacillaires et des bacilles pyocyaniques. On prélève le tissu pulmonaire de ces animaux successivement le premier, le deuxième et le troisième jour. On fait des colorations vitales avec le rouge neutre. L'examen des coupes ne montre pas de microbe dans l'intérieur des cellules qui entourent les vaisseaux pulmonaires. Des coupes faites après fixation donnent les mêmes résultats.

Donc, ce n'est pas le tissu pulmonaire, ou plutôt les cellules qui entourent les vaisseaux pulmonaires qui défend activement l'Hélix contre les microbes inoculés.

Par toutes les expériences déjà relatées, le mécanisme de l'immunité constatée n'est pas expliqué. Ces expériences démontrent seulement que ce ne sont pas les éléments anatomiques qui défendent directement l'animal par le phénomène de l'englobement, de la phagocytose. Nous démontrons encore, au moyen des substances chimiotactiques négatives pour les globules sanguins, que la phagocytose n'est pour rien dans l'immunité. Mais passons, avant de relater ces expériences, à un autre ordre de recherches. Il s'agit de savoir pendant combien de temps on peut déceler au moyen des cultures, des microbes inoculés à des escargots. Ces recherches nous renseignent sur le temps nécessaire pour qu'un escargot en hibernation inoculé avec un microbe donné puisse tuer ce microbe.

1. — RECHERCHE DU BACILLE PYOCYANIQUE.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à quatre Hélix une culture de bacille pyocyanique. La quantité injectée est de 0,5 cm³ pour chaque escargot. Au bout de 24 heures, on saigne un escargot et on prélève un morceau d'hépatopancréas. On enseme dans deux tubes de bouillon ordinaire. Le lendemain, les cultures ne présentent aucune fluorescence, mais le deuxième jour on a une belle fluorescence verte, indice de la présence du bacille pyocyanique. Au bout de 48 heures, on prélève à un autre escargot du sang et de l'hépatopancréas que l'on enseme dans les tubes à bouillon liquide. Le lendemain, on a une belle fluorescence verte.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à quatre Hélix une culture de bacille pyocyanique. La quantité injectée est de 0,5 cm³ pour chaque animal. Sept jours après l'inoculation, on prélève du sang et un morceau d'hépatopancréas et on les enseme dans des tubes à bouillon liquide. Le lendemain, il y a déjà à la surface des liquides un anneau vert et le surlendemain, toute la culture présente une belle fluorescence verte. Trois semaines après l'inoculation, on recherche, au moyen des cultures, le bacille pyocyanique dans le sang et dans l'hépatopancréas. Le surlendemain, le tube ensemené avec le sang présente une belle fluorescence verte, tandis que le tube ensemené avec le morceau d'hépatopancréas ne présente aucune fluorescence. Quatre semaines après l'inoculation, on fait la recherche du bacille pyocyanique dans le sang et dans le foie. Les cultures sont négatives, aucun développement microbien.

Donc, disparition des microbes des tissus au bout de trois semaines et disparition des microbes du sang au bout de quatre semaines.

2. — RECHERCHE DU COLIBACILLE

EXPÉRIENCE I. — On injecte à plusieurs Hélix une culture colibacillaire (la dose injectée est de 0,5 cm³ pour chaque animal). Au bout de 24 heures, on saigne un escargot et on lui prélève la glande hépatopancréatique. On enseme dans des tubes de bouillon liquide au neutral roth. Le lendemain, on a le virage au jaune canari, indice de la présence du colibacille. Au bout de 48 heures, on enseme du sang et un morceau d'hépatopancréas d'un autre animal inoculé. Le lendemain, on a un virage au jaune canari, indice de la présence du colibacille.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à plusieurs Hélix une culture colibacillaire (la dose injectée est de 0,5 cm³). Le septième jour, on prélève du sang et un morceau d'hépto-pancréas et on les enseme dans des tubes de bouillon au neutral roth. Le lendemain, on a un virage au jaune canari, caractéristique de la présence du colibacille. Trois semaines après, on fait le même prélèvement du sang et de l'hépto-pancréas et on les enseme dans des bouillons au neutral roth. La culture avec du sang a donné le virage au jaune canari ; par contre, la culture ensemenée avec l'hépto-pancréas n'a pas viré. Quatre semaines après, on prélève du sang et de l'hépto-pancréas ; les cultures sont négatives, il n'y a pas de virage au jaune canari.

Donc, il y a disparition des bacilles coli de l'organisme de l'Hélix seulement au bout de quatre semaines. La disparition survient d'abord dans les tissus, ensuite dans le sang.

Donc, des Hélix inoculés, soit avec des colibacilles, soit avec des bacilles pyocyaniques, font disparaître ces microbes complètement seulement vingt-huit jours après l'inoculation. La constatation que les microbes disparaissent d'abord des tissus, ensuite du sang, révèle un autre fait : ce n'est pas le tissu qui se charge de détruire les microbes, mais le sang et si, dans le premier cas, on a une disparition plus rapide des microbes, c'est parce que la quantité du sang qu'il contient au moment de l'ensemencement est petite. En effet, la présence des microbes est proportionnée à la quantité ensemenée. Si on enseme une goutte de sang dans quelques cas nous n'avons pas obtenu des cultures positives ; par contre, si on enseme du même sang, mais en plus grande quantité, on a des cultures positives. Donc, ceci indique que c'est le sang qui se charge de détruire les microbes. N'oublions pas que nous expérimentons toujours avec des Hélix en hibernation.

Poursuivons notre raisonnement : la question reste toujours en suspens, malgré les premiers résultats. Adressons-nous maintenant aux substances chimiotaxiques négatives, c'est-à-dire à celles qui dépriment l'activité phagocytaire des

globules sanguins. Parmi ces substances on a : la quinine, l'antipyrine, l'acide lactique, etc... Nous avons expérimenté avec ces trois substances dont les propriétés chimiotaxiques négatives sont démontrées définitivement. Tout d'abord nous nous sommes assuré si ces substances étaient normalement tolérées par l'Hélix, car il serait inexact de conclure que la mort est due à l'infection, si l'animal meurt à la suite de l'intoxication chimique.

EXPÉRIENCE I. — On fait une solution de 1 p. 30 de chlorhydrate de quinine (1 gramme de quinine pour 30 gr. d'eau distillée). On injecte 0,5 cm³ de cette solution à plusieurs escargots (0,5 cm³ est la dose pour chaque animal). Quelques jours après l'injection, un escargot est mort, les autres sont vivants (il y a eu lors des injections des hémorragies).

Cette expérience et d'autres démontrent que le chlorhydrate de quinine à la dose employée par nous n'est pas toxique pour l'Hélix en hibernation. Dans d'autres expériences, nous avons augmenté la concentration de la solution en quinine, les résultats étaient identiques; il y a une résistance particulière des Hélix contre l'intoxication quinique.

EXPÉRIENCE II. — On fait une solution à 1 p. 30 d'antipyrine (1 gr. d'antipyrine pour 30 gr. d'eau distillée). On injecte de cette solution 0,5 cm³ à plusieurs escargots (0,5 fut la dose pour chaque animal). Quelques jours après l'injection, les escargots sont toujours vivants.

Donc, l'antipyrine, à la dose employée par nous, n'est pas toxique pour les Hélix en hibernation.

EXPÉRIENCE III. — On fait une solution à 1 p. 30 d'acide lactique (1 gr. d'acide lactique pour 30 gr. d'eau distillée). On injecte 0,5 cm³ de cette solution à plusieurs escargots (0,5 cm³ est la dose pour chaque animal). Les animaux ont résisté à cette inoculation.

Donc, l'acide lactique employé à la dose indiquée n'est pas toxique pour les Hélix en hibernation.

Ces expériences, surtout ces résultats, nous ont facilité la tâche. Les expériences décisives peuvent se réaliser. S'il y a phagocytose, il faut que les animaux auxquels on a injecté

des substances chimiotaxiques négatives meurent par infection ou intoxication microbienne. Donc, ces expériences étaient très importantes pour nous amener à des recherches plus intéressantes à faire.

Passons aux expériences :

1° CHLORHYDRATE DE QUININE

EXPÉRIENCE I. — On fait le mélange d'une culture colibacillaire jeune et virulente et d'une solution de chlorhydrate de quinine à 1 p. 30. (Le mélange est fait dans les rapports : 2 cm³ de la solution pour 2 cm³ de la culture). On injecte à deux escargots de ce mélange : 0,5 cm³ pour chaque animal. Deux jours après un escargot est mort et l'autre vivant. Dix jours après l'escargot est toujours bien vivant.

EXPÉRIENCE II. — On fait le mélange d'une culture colibacillaire dans les proportions suivantes : 3 cm³ de quinine pour 2 cm³ de microbes. On en fait des injections à des Hélix, 0,5 cm³ pour chaque animal. Les animaux résistent à ces inoculations.

Donc, l'Hélix inoculé avec les mélanges : *quinine-coli*, *résiste, conserve son immunité naturelle*.

EXPÉRIENCE I. — On fait le mélange d'une culture de bacille pyocyanique avec une solution de chlorhydrate de quinine à 1 p. 30 : 2 cm³ de solution pour 2 cm³ de culture. On injecte à deux escargots 0,5 cm³ de ce mélange (0,5 cm³ pour chaque animal). Quelques jours après, un escargot est mort et l'autre vit.

EXPÉRIENCE II. — La même que ci-dessus. Les Hélix ont parfaitement résisté à ces inoculations.

Donc, l'Hélix inoculé avec le mélange : *quinine-pyocyanique*, *conserve son immunité naturelle*.

2° ANTIPYRINE

EXPÉRIENCE I. — On fait le mélange d'une culture colibacillaire jeune et virulente et d'une solution d'antipyrine à 1 p. 30 dans les proportions :

2 cm³ de culture pour 2 cm³ de solution. On injecte 0,5 cm³ de ce mélange à plusieurs escargots (0,5 cm³ pour chaque animal). Quelques jours après les animaux sont vivants.

EXPÉRIENCE II. — On fait le mélange dans les proportions 3 cm³ d'une solution d'antipyrine à 1 p. 30 pour 2 cm³ de culture colibacillaire. On injecte 0,5 cm³ pour chaque animal. Les animaux sont vivants et ne présentent aucun phénomène morbide.

Donc, les mélanges coli-antipyrine sont tolérés par l'Hélix en hibernation, dont l'immunité naturelle au coli persiste.

EXPÉRIENCE I. — On fait le mélange d'une solution d'antipyrine à 1 p. 30 et d'une culture du bacille pyocyanique (2 cm³ × 2 cm³). On injecte de ce mélange 0,5 cm³ à plusieurs Hélix (0,5 cm³ pour chaque escargot). Les animaux supportent cette inoculation sans présenter de troubles.

EXPÉRIENCE II. — La même que ci-dessus. On a fait seulement les mélanges : 3 cm³ de solution pour 2 cm³ de culture. Les animaux n'ont présenté aucun trouble.

Donc, les Hélix inoculés avec le mélange antipyrine bacille pyocyanique conservent une immunité naturelle remarquable.

3° ACIDE LACTIQUE

EXPÉRIENCE I. — On fait des mélanges d'acidelactique (solution à 1 p. 30) et de culture colibacillaire (2 cm³ × 2 cm³). On injecte de ce mélange à plusieurs Hélix, 0,5 cm³ (cette dose pour chaque animal) ; quelques jours après tous les animaux sont vivants.

EXPÉRIENCE II. — La même que ci-dessus. Mais les mélanges sont dans les proportions : 3 cm³ de solution pour 2 cm³ de culture. Les animaux ont résisté à cette inoculation.

Donc, les mélanges acide lactique-coli inoculés à des Hélix en hibernation ne déterminent pas la mort de ces animaux, donc immunité naturelle non changée.

EXPÉRIENCE I. — On fait des mélanges d'acide lactique (solution à 1 p. 30) et de culture du bacille pyocyanique dans les proportions : 2 cm³ pour 2 cm³. On injecte 0,5 cm³ à plusieurs escargots (0,5 dose pour chaque animal). Les animaux ne présentent aucun trouble morbide.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus, mais les mélanges sont faits dans les rapports : 3 cm³ de solution pour 2 cm³ de culture. Les animaux ont résisté.

Donc, les Hélix conservent leur immunité naturelle avec les mélanges : acide lactique bacille pyocyanique.

En résumé, toutes ces expériences tendent à démontrer avec une rigueur suffisante que la phagocytose chez les Hélix ne joue aucun rôle dans l'immunité puisque, même dans le cas où les phagocytes sont déprimés par les substances chimiques, les animaux inoculés avec des microbes résistent. Ces résultats concordent parfaitement avec ceux obtenus par d'autres méthodes.

Avant d'arriver au dernier problème relatif au mécanisme de la résistance constatée chez l'Hélix, nous avons eu l'idée de rechercher le pouvoir opsonique du sang de ces animaux.

Pouvoir opsonique du sérum des Hélix.

Nous ne voulons pas insister beaucoup sur cette question si intéressante du pouvoir opsonique des sérums. Nous avons fait seulement quelques expériences avant de passer à celles qui ont débrouillé complètement le mécanisme de l'immunité constatée.

On appelle pouvoir opsonique la propriété que possède un sérum de favoriser la phagocytose en agissant directement sur les microbes, c'est-à-dire en les rendant plus phagocytables. Lorsqu'on mélange des leucocytes, lavés à l'eau physiologique, avec des microbes, on a constaté chez les vertébrés que les leucocytes phagocytent ces microbes. Si ces microbes ont subi l'action d'un sérum, les phagocytes englobent une plus grande quantité de microbes, d'où on a conclu à l'existence dans le sérum d'une propriété spéciale qui rendrait les microbes plus phagocytables. Nous avons

cherché tout d'abord si normalement, en prélevant les globules sanguins d'Hélix et en les mélangeant avec des colibacilles ou des bacilles pyocyaniques, on pouvait observer la phagocytose *in vitro*.

EXPÉRIENCE I. — On mélange une quantité suffisante du sang d'Hélix qu'on vient d'obtenir par section des vaisseaux pulmonaires avec des colibacilles jeunes et virulents. On place ce mélange à la température de $+20^{\circ}$ et au bout d'une demi-heure, puis d'une heure, on examine au microscope. Or, les colorations vitales (rouge neutre) et les frottis ne montrent pas de microbes phagocytés. Un autre mélange est placé à l'étuve à 33° , le résultat est identique, absence de phagocytose *in vitro* (fig. 10).



Fig. 10. — Sang de l'escargot en hibernation pour étudier la phagocytose *in vitro*. (Préparation faite deux heures après le contact des globules et des microbes).

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus en remplaçant seulement les colibacilles par les bacilles pyocyaniques. Les résultats sont identiques : absence de phagocytose.

Ces premiers résultats nous ont dispensé de faire des lavages des leucocytes d'Hélix, puisque dans le cas où ils se trouvent dans le sérum lui-même, ils n'ont pas phagocytés les corps microbiens. Il était intéressant de voir si dans le cas où l'on employait par exemple du sang d'un escargot qui avait subi des injections de culture soit colibacillaire, soit du bacille pyocyanique, on pouvait obtenir une phagocytose. Or, l'expérience nous a montré que même les glo-

bules sanguins mélangés avec le sérum provenant d'escargots ayant subi des injections de culture microbiennes mis en présence de microbes, n'ont pas phagocyté ces microbes. *Donc, le pouvoir opsonique n'existe pas chez l'escargot en hibernation normale et chez l'escargot ayant déjà subi des inoculations de cultures microbiennes.*

Action directe du sang sur les microbes.

Après avoir constaté que ce ne sont pas les globules sanguins qui détruisent les microbes, que ce ne sont pas les tissus pulmonaires, les cellules de Leydig et la glande hépatique qui fixent et englobent les microbes, il était logique de supposer que ce sont les humeurs qui agissent directement sur eux. Cette hypothèse qui vient en déduction de nos précédentes recherches est vérifiée par l'expérimentation, ainsi que nous l'a montré l'action directe du sang *in vitro* sur quelques espèces microbiennes étudiées par nous.

1. — ACTION DU SANG SUR LE BACILLE PYOCYANIQUE

EXPÉRIENCE I. — On prélève du sang de plusieurs Hélix par section des vaisseaux pulmonaires. On ajoute une très petite goutte de culture du bacille pyocyanique. On les laisse en contact pendant 24 heures et au bout de ce temps on les enseme dans un tube de bouillon. Le lendemain, la culture n'est pas très nette ; le surlendemain, elle est positive : une belle fluorescence verte.

EXPÉRIENCE II. — On recueille du sang de plusieurs Hélix que l'on contamine avec quelques bacilles pyocyaniques. On les laisse en contact pendant 48 heures et on les enseme ensuite dans un tube de bouillon. Le deuxième jour on a une belle fluorescence verte.

EXPÉRIENCE III. — On fait la même expérience que ci-dessus, mais en laissant le contact s'effectuer pendant plus longtemps : deux semaines et

même un mois. On ensemence avec le mélange conservé deux semaines un tube de bouillon : la culture est positive, c'est-à-dire qu'on a une belle fluorescence verte. On ensemence un tube avec le mélange conservé trois semaines ; la culture est encore positive. Au bout d'un mois, une nouvelle culture est négative, absence d'une fluorescence verte. Donc, c'est seulement au bout d'un mois de contact que le sang de l'Hélix en hibernation *in vitro*, détruit les bacilles pyocyanique.

2. — ACTION DU SANG SUR LES COLIBACILLES

EXPÉRIENCE I. — On recueille du sang de plusieurs escargots et on le mélange avec une culture de colibacilles. Au bout de 24 heures de contact, on ensemence ce mélange dans un tube de bouillon au rouge neutre. Le lendemain, on a le virage au jaune canari, caractéristique de présence du colibacille.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus, en laissant seulement le contact s'effectuer pendant 48 heures. On ensemence ensuite ce mélange dans un tube de bouillon au rouge neutre. Le lendemain, on a le virage au jaune canari.

EXPÉRIENCE III. — On recueille du sang de plusieurs escargots par section des vaisseaux pulmonaires. On le mélange avec quelques colibacilles. On se propose d'étudier le mélange au bout de deux semaines, de trois et même plus s'il est nécessaire. On l'ensemence dans un tube de bouillon au rouge neutre au bout de deux semaines. Le lendemain, on a le virage au jaune canari. On l'ensemence au bout d'un mois, on n'a plus de virage au jaune canari ; donc, les colibacilles étaient détruits seulement au bout d'un mois.

Nous remarquons que normalement lorsqu'on ensemence une vieille culture (d'un mois par exemple) de colibacille et de bacille pyocyanique dans un tube de bouillon, soit au rouge neutre, soit ordinaire, on obtient la belle fluorescence verte du bouillon ordinaire avec le pyocyanique et le virage au jaune canari du rouge neutre avec le coli.

En résumé, le sang d'Hélix en hibernation possède des propriétés destructives naturelles, préexistantes pour les bacilles pyocyaniques et les colibacilles. Pour que la destruction ait lieu, il faut un contact prolongé, un mois.

Ces dernières expériences résolvent le problème que nous nous sommes posé au début de ces recherches : *c'est une immunité humorale préexistante* qui défend l'animal contaminé. Mais pour que la destruction complète des microbes ait lieu, il faut un temps suffisamment long. Pendant ce temps, le sang empêche le développement de ces microbes et les détruit peu à peu.

B. ESCARGOT EN ESTIVATION ACTIVE.

Dans cette étude, la tâche nous est facilitée par les expériences déjà relatées. Quelques faits constatés chez l'escargot en hibernation se retrouvent chez l'escargot en estivation active. Nous ajoutons le mot « active » à estivation, car c'est là un point très important pour la vie en estivation. Généralement, lorsqu'on dit escargots en estivation, on s' imagine immédiatement que ce sont des animaux qui sont actifs du mois de mai ou juin au mois de novembre. Or, un Hélix vivant pendant cette période peut ne pas être en vie active, mais ralentie (quand la sécheresse est trop forte). Escargot en vie active, c'est un animal qui mange, qui grimpe, qui présente en somme les signes d'une vie active. Escargot en vie ralentie, c'est un animal qui ne mange pas, qui ne grimpe pas, qui reste dans sa coquille malgré la saison estivale. Toutes nos expériences en estivation portent sur l'escargot en vie active.

Dans cette étude, nous avons pu réaliser deux ordres de recherches : 1° sur les voies digestives, et 2° sur la cavité générale.

I. Contamination des voies digestives. La résistance aux contaminations. Le mécanisme de la résistance.

Nous avons donné tous les détails dans le chapitre des techniques concernant la contamination des voies digestives des escargots. La nourriture préférée de ces animaux est la salade fraîche.

Les agents de contamination sont : le bacille pyocyannique et le colibacille. Nous croyons qu'il est inutile d'employer plus d'espèces microbiennes, car pour démontrer l'existence d'une propriété, il suffit d'expérimenter avec une ou deux espèces.

I. — AGENT DE CONTAMINATION : *le bacille pyocyannique.*

EXPÉRIENCE I. — On contamine des feuilles de salade fraîche par des cultures du bacille pyocyannique âgées d'une semaine. Ces feuilles servent de nourriture à plusieurs Hélix. Les animaux mangent sans répugnance. Le lendemain, on enlève ces feuilles et on leur donne une nourriture normale. L'observation a duré plus d'une semaine, jamais les escargots n'ont présenté de phénomènes morbides.

EXPÉRIENCE II. — On contamine des feuilles de salade par des cultures du bacille pyocyannique et on les donne comme nourriture à plusieurs escargots. On contamine des feuilles fraîches tous les jours par des cultures pendant une semaine. Jamais les Hélix n'ont présenté de troubles morbides.

EXPÉRIENCE III. — On introduit à l'aide d'une pipette dans l'intérieur du tube digestif de quelques escargots, une certaine quantité d'une culture du bacille pyocyannique. Ainsi la contamination est massive. On fait la même contamination tous les jours. Les escargots n'ont présenté aucun trouble morbide pendant plus de deux semaines d'observation.

Donc, les Hélix en vie active, nourris avec des cultures du bacille pyocyannique, résistent à cette contamination. La nourriture

exclusivement microbienne est supportée sans danger par ces animaux.

II. — AGENT DE CONTAMINATION : *le Colibacille.*

EXPÉRIENCE I. — On contamine des feuilles de salade par des cultures colibacillaires jeunes de 48 heures. Ces feuilles servent de nourriture à quelques escargots en vie active. Elles sont mangées sans répugnance. L'observation a duré plus d'une semaine sans que les animaux présentent quelques phénomènes morbides.

EXPÉRIENCE II. — On contamine des feuilles de salade par des cultures colibacillaires et on les donne comme nourriture à plusieurs Hélix. Tous les jours on procède à la même contamination. Les Hélix n'ont présenté aucun phénomène morbide.

EXPÉRIENCE III. — On introduit à l'aide d'une pipette dans la cavité digestive une certaine quantité d'une culture colibacillaire à plusieurs escargots. On fait la même opération tous les jours pendant une semaine. Les Hélix ont résisté à cette contamination massive.

Donc, les escargots possèdent une résistance absolue contre les cultures colibacillaires introduites dans leur tube digestif.

Ces expériences démontrent suffisamment que les voies digestives possèdent des moyens de défense ; le mécanisme de cette résistance sera examiné plus loin. Voyons s'il y a passage des microbes du tube digestif dans la cavité générale. L'expérience est facile à réaliser.

EXPÉRIENCE I. — On nourrit quelques escargots avec des cultures colibacillaires. Le lendemain, c'est-à-dire au bout de 24 heures, on saigne ces animaux et on ensemence du sang dans un tube de bouillon au neutral roth. La culture est négative.

EXPÉRIENCE II. — La même que ci-dessus, mais en employant la culture du bacille pyocyanique. Au bout de 24 heures, on saigne les animaux en expérience et on ensemence du sang dans un tube de bouillon ordinaire. La culture est négative.

Donc, il n'y a pas de passage des microbes (colibacille, bacille pyocyanique) du dehors (tube digestif) en dedans (cavité générale).

Le mécanisme de la résistance.

Examinons maintenant en détail ce qui se passe dans l'intérieur du tube digestif des escargots nourris avec des cultures soit colibacillaires, soit du bacille pyocyanique. Y a-t-il destruction des microbes et de leurs toxines par les sucs digestifs ? Y a-t-il passage des microbes dans les premières couches cellulaires des tissus du tube digestif ? Telles sont les questions auxquelles nous répondons par les expériences suivantes :

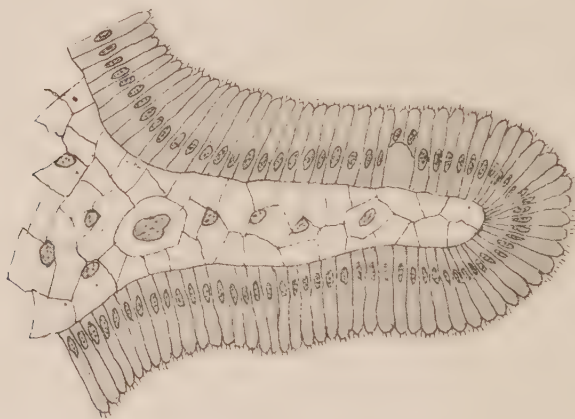


Fig. 11. — Intestin absorbant de l'escargot en estivation (vie active).

Voyons tout d'abord si on décèle des microbes dans les cellules des tissus intestinaux. L'expérience consistait à nourrir des escargots avec des cultures colibacillaires et des bacilles pyocyaniques pendant deux ou trois jours, puis à les sacrifier et à prélever sur eux des portions de l'intestin absorbant.

Les expériences ont montré l'absence des microbes dans

les cellules épithéliales, ainsi que dans les autres tissus constitutifs de cet intestin (fig. 11).

Dans d'autres expériences, nous avons prélevé aussi la glande hépato-pancréatique. Jamais nous n'avons observé la présence des microbes dans ces éléments. Ceci nous amène à dire que ce ne sont pas les tissus qui se chargent de détruire les microbes ingérés.

Il nous reste maintenant à examiner la première hypothèse : s'agit-il d'une destruction des microbes par les sucs digestifs ? Voyons d'abord nos expériences.

Dans quelques cas, nous avons cherché au bout de combien de temps on ne pouvait plus déceler la présence des microbes ingérés dans le tube digestif.

EXPÉRIENCE I. — On nourrit quelques escargots avec des cultures colibacillaires. On se propose de prélever, 24 heures après la contamination, un peu de liquide et de tissu intestinal. Au bout de 24 heures, on donne à ces animaux une nourriture normale. Après 24 heures, on prélève du liquide digestif ainsi que du tissu intestinal et on les ensemece dans un tube de bouillon au rouge neutre. Pas de virage au jaune canari.

EXPÉRIENCE II. — La même que ci-dessus, mais en employant la culture du bacille pyocyanique. Le résultat est le même : absence de fluorescence verte, donc pas de bacille pyocyanique.

Donc, 24 heures après l'ingestion des microbes, on ne les retrouve plus dans le tube digestif de l'Hélix en vie active.

Ceci nous a amené à chercher l'action directe *in-vitro* des liquides digestifs sur les microbes.

EXPÉRIENCE I. — On mélange quelques centimètres cubes de liquides digestifs avec une petite goutte de culture du bacille pyocyanique. On ensemece ce mélange dans un tube de bouillon ordinaire, 24 heures après. La culture n'a pas poussé.

EXPÉRIENCE II. — On mélange quelques centimètres cubes de liquides digestifs avec une petite goutte de culture du colibacille. On ensemece ce mélange 24 heures après dans un tube à bouillon liquide au rouge neutre, la culture est négative : absence de virage au jaune canari.

Donc, il suffit d'un contact de 24 heures entre les colibacilles et les bacilles pyocyaniques, d'une part, et les liquides digestifs de

l'escargot, d'autre part, pour que ces microbes perdent leur vitalité. La résistance d'Hélix aux contaminations massives est due à la destruction des cultures par les liquides digestifs. Voilà la clef du mécanisme de cette résistance.

II. — Contamination de la cavité générale.

La plupart des recherches concernant l'immunité proprement dite fut étudiée de la même façon que chez l'Hélix en hibernation. Nous verrons que dans le cas d'Hélix en vie active, les phénomènes humoraux sont plus accusés, ce qui d'ailleurs n'est pas très surprenant, puisque à ce moment, l'activité vitale est au plus haut chef. Nous ne parlerons plus des expériences concernant la phagocytose *in-vitro* et *in-vivo*. Les résultats sont les mêmes dans les deux périodes. Nous ne parlerons pas non plus de la phagocytose par les tissus : les résultats sont les mêmes. Nous ne parlerons pas des expériences relatives aux substances chimio-taxiques négatives ; on obtient les mêmes résultats.

Par contre, nous exposerons nos expériences relatives à l'action directe du sang sur les microbes *in-vitro*, action très importante, puisqu'elle nous a amené à découvrir l'existence d'une immunité humorale.

Les Hélix inoculés avec des cultures colibacillaires ou des bacilles pyocyaniques possèdent une immunité naturelle contre ces cultures. Quel est le mécanisme de cette immunité ? S'agit-il d'une immunité due à la phagocytose ou aux propriétés humorales ? Voilà l'explication que nous donnons de ce mécanisme.

Ce n'est pas la phagocytose, puisque aucune expérience ne la démontre. Par contre, il s'agit d'une immunité humo-

rale préexistante, comme le démontrent les expériences suivantes :

EXPÉRIENCE I. — On recueille du sang de plusieurs escargots par section des vaisseaux pulmonaires. On y ajoute une petite goutte d'une culture de bacille pyocyanique. Au bout de 24 heures, on ensemente ce mélange dans un tube de bouillon ordinaire. La culture est négative.

EXPÉRIENCE II. — On recueille du sang de plusieurs escargots en vie active par section des vaisseaux pulmonaires. On y ajoute une petite quantité de colibacilles. Au bout de 24 heures, on ensemente ce mélange dans un tube de bouillon au rouge neutre. Pas de virage au jaune canari; donc absence du colibacille.

Ces deux expériences et d'autres démontrent que le sang in vitro d'Hélix en vie active détruit au bout de 24 heures les colibacilles et les bacilles pyocyaniques. Donc, il existe une immunité naturelle humorale préexistante dans le sang de l'escargot en vie active. Cette immunité est bien plus manifeste en période active qu'en période de sommeil. Ainsi s'explique le mécanisme de l'immunité constatée.

L'immunité chez l'Anodonta.

Anodonta appartient au groupe des Lamellibranches. C'est la seule espèce que nous ayons étudié appartenant à ce groupe. Nous avons indiqué les techniques ailleurs. On a effectué seulement les expériences types sans entrer dans les détails. On a étudié : 1° la contamination des voies respiratoires et des voies digestives à la fois et 2° la contamination de la cavité générale.

Les agents de contamination sont : les colibacilles et les bacilles pyocyaniques.

I. — Contamination des voies respiratoires et des voies digestives.

Nous remarquons que la contamination est toujours *mixte* en procédant comme nous l'avons fait. L'animal est plongé dans un liquide fortement contaminé. Dans ces conditions, le courant passe par le tube digestif et il le contamine ; le liquide étant en contact direct avec les branchies, dépose les corps microbiens contenus en lui. Par conséquent il y a toujours la contamination mixte.

1. — AGENT DE CONTAMINATION : *la culture colibacillaire.*

EXPÉRIENCE I. — On place deux Anodonta dans un cristalliseur contenant de l'eau fortement contaminée par une culture colibacillaire. On laisse ainsi les animaux pendant six heures, puis on les place dans des conditions normales. Les Anodonta n'ont présenté aucun phénomène morbide pendant tout le temps d'observation qui a duré plus de quatre semaines.

EXPÉRIENCE II. — On place deux Anodonta dans un cristalliseur contenant de l'eau fortement contaminée par une culture colibacillaire. On laisse ainsi les animaux pendant 24 heures, puis on les place dans les conditions normales. Les animaux ont résisté à cette contamination.

Donc, les Anodonta dont les voies respiratoires et les voies digestives sont contaminées par les cultures colibacillaires résistent à ces contaminations.

2. — AGENT DE CONTAMINATION : *la culture de bacille pyocyannique.*

EXPÉRIENCE I. — On place deux Anodonta dans un cristalliseur contenant de l'eau contaminée par des cultures de bacille pyocyannique. On les laisse dans ces conditions pendant six heures, puis on les place dans des conditions normales. Les animaux ont résisté à ces contaminations.

EXPÉRIENCE II. — La même que ci-dessus en laissant seulement l'animal dans l'eau contaminée pendant 24 heures. Il a résisté à cette contamination.

Donc, les Anodonta résistent aux contaminations des voies respiratoires et des voies digestives par les cultures du bacille pyocyanique.

II. — Contamination de la cavité générale.

Les injections sont faites dans le pied. Le traumatisme ne détermine pas de troubles. Les agents de contamination sont le bacille pyocyanique et le colibacille.

1. — AGENT DE CONTAMINATION : la culture colibacillaire complète.

EXPÉRIENCE I. — On pique avec une aiguille à injection trempée dans une culture de colibacille au bouillon liquide (culture jeune de 24 heures, non diluée) des Anodontes en très bon état. La piqûre est faite dans le pied en écartant les valves de la coquille pour les faire bailler. Six heures après la piqûre, les animaux ne présentent rien d'anormal. Le lendemain ils sont vivants, un mois après ils sont vivants.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à des Anodontes 0,3 cm³ de culture pure, non diluée, de colibacille en bouillon liquide dans le pied. Six heures après l'injection, les animaux ne présentent rien d'anormal. Un mois après ils sont vivants.

EXPÉRIENCE III. — On injecte 0,7 cm³ de culture pure, non diluée, de colibacille en bouillon liquide (culture vieille de 24 heures) à des Anodontes dans leur pied. Cette dose colossale a été injectée en nous assurant d'abord que 1 cm³ de bouillon stérilisé n'est pas toxique pour nos animaux. Trois semaines après, tous les animaux sont vivants.

Donc, les Anodonta possèdent une immunité naturelle remarquable contre les cultures du colibacille, immunité naturelle antitoxique et antimicrobienne.

2. — AGENT DE CONTAMINATION : *la culture du bacille pyocyannique.*

EXPÉRIENCE I. — On injecte à des Anodontes dans leur pied 0,5 cm³ de culture pure, non diluée, du bacille pyocyannique (culture vieille de 24 heures. Six heures après l'inoculation, les animaux ne présentent aucun phénomène morbide. Un mois après l'inoculation, ils sont toujours vivants.

EXPÉRIENCE II. — La même que ci dessus, mais en injectant une dose plus forte : 0,7 cm³. Les animaux ont parfaitement résisté à ces inoculations.

Donc, les Anodonta possèdent une immunité naturelle remarquable contre les cultures du bacille pyocyannique, immunité naturelle antitoxique et antimicrobienne.

DEUXIÈME PARTIE

Les Anticorps chez les Invertébrés

CHAPITRE PREMIER

Historique

La question des anticorps chez les invertébrés a été presque complètement laissée à part et très peu étudiée. Ces dernières années, à la suite des travaux de H. et de L. Frédéricq, de Sczawinska, de Noguchi, quelques auteurs se sont occupés du problème et ont apporté quelques faits très intéressants ; nous allons exposer les idées qui en découlent. Les conclusions des auteurs sont contradictoires. Le problème extrêmement complexe se pose cependant de la façon la plus précise : les invertébrés présentent-ils des anticorps normaux ? Sont-ils capables, question d'une très haute importance biologique, de produire des anticorps acquis ? En somme, les invertébrés en général peuvent-ils réagir aux inoculations des antigènes et donner naissance dans leur milieu antérieur à des substances nouvelles ou mieux encore, leurs humeurs acquièrent-elles de nouvelles propriétés ? A notre avis, pour résoudre une question de si haute importance scientifique, il faudrait expérimenter pendant très longtemps sur des animaux appartenant à des groupes très divers et seulement après avoir fait une expérimentation telle que la critique la plus serrée ne pourrait mettre en

doute les conclusions. Il ne faut pas trop s'appuyer sur des hypothèses, il faut expérimenter. Il ne faut pas employer une technique très compliquée, difficile à suivre par un autre chercheur qui voudrait contrôler les résultats. Il faut être clair, précis et méthodique.

Metchnikoff a fait des essais pour faire produire de l'antitoxine aux scorpions ainsi qu'aux larves d'*Oryctes nasicornis*. Il leur injectait de la toxine tétanique. Les essais ont échoué complètement.

W. Szczawinska a fait des recherches sur le sérum cytotoxique pour les globules du sang d'un invertébré (écrevisse). Pour obtenir ce sérum Szczawinska s'est adressée au cobaye auquel elle injectait dans la cavité péritonéale le sang de l'écrevisse. Elle a observé que le sérum du cobaye agissait *in vivo* et *in vitro* sur les globules du sang de l'écrevisse. Dans un autre travail, Szczawinska nous apporte d'autres expériences et en particulier l'essai d'immunisation des écrevisses contre les sérums toxiques. Szczawinska prétend avoir obtenu l'immunisation nette des écrevisses seulement contre la dose mortelle de sérum hémotoxique pour leur sang ; les écrevisses soumises aux expériences n'ont pas manifesté d'une façon précise l'immunité spécifique contre l'action du sérum pour leur sang.

Les conclusions de Szczawinska sont intéressantes à citer :
« Ainsi la question des anticorps chez les invertébrés reste
« toujours en suspens, car, parmi plusieurs investigateurs
« qui ont fait des expériences en vue de les obtenir chez les
« invertébrés, seul Hidejo Noguchi a obtenu des résultats
« positifs et seulement chez la Limule. Sans vouloir diminuer
« la valeur des expériences de cet auteur, nous les considé-
« rerons comme insuffisantes pour trancher une question
« d'aussi haute importance pour le groupe des invertébrés
« tout entier ».

En effet, M. Noguchi (1903) avait fait des recherches sur les précipitines, les agglutinines et les hémolysines chez des animaux à sang froid. Parmi les invertébrés, il a expérimenté les *Limules*. Le sérum normal des *Limules* possède déjà des précipitines et des agglutinines actives pour le sang de certains poissons. Il en est de même pour le sérum de Homard. Mais les sérums normaux de ces deux espèces animales n'ont aucune action hémolytique sur les globules rouges du sang. Noguchi a fait à ce propos la remarque générale que les animaux ne possédant pas eux-mêmes d'érythrocytes dans le sang ne peuvent non plus avoir d'anticorps pour ces éléments. Cependant, il a produit artificiellement les hémolysines en leur injectant à plusieurs reprises le sang de divers poissons : carrelets, chiens de mer et autres. Les sérums des animaux préparés présentaient des propriétés agglutinantes très marquées pour les globules du sang des poissons qui avaient servi à leur préparation, mais leur action hémolytique restait toujours très faible. L'hémolyse s'effectuait en 8 et 18 heures; une seule fois l'auteur a obtenu l'hémolyse en 6 heures. Les agglutinines des *Limules* sont, d'après les recherches de Nidejo Noguchi, très thermolabiles, elles s'altèrent déjà par le chauffage à 40°, elles sont multiples dans chaque sérum. Tous ces résultats ont amené l'auteur à conclure que les hémolysines, les agglutinines et les précipitines se forment chez les *Limules* de la même façon que celles des vertébrés à sang chaud et à sang froid.

Von Dungern (1903) a publié deux mémoires au sujet de la question qui nous occupe. Il avait obtenu des précipitines chez des lapins avec le plasma de *Maja squinado*, de *Dromia vulgaris*, d'*Octopus vulgaris* et d'*Eledone moschata*. Il s'est attaché surtout à étudier les rapports quantitatifs entre les précipitines des sérums précipitants et les substances préci-

pitables des plasmas lorsqu'elles forment le précipité. L'auteur obtenait le précipité dans le sang de divers crustacés avec les précipitines de Maja. Cet auteur a cherché à produire aussi les précipitines chez les invertébrés. Les recherches n'ont pas été couronnées de succès. Il injectait *Eledone moschata* et *Aplysia depilans* de plasma de Maja. L'*Eledone* contenait encore, le septième jour après l'opération, le plasma injecté dans le sang. *Aplysia* l'avait conservé pendant plusieurs semaines dans la cavité du corps à l'endroit où l'injection avait été faite. L'auteur n'a pas trouvé des précipitines chez l'*Eledone*, il ne les a pas cherchées chez *Aplysia*. Ces résultats concordent avec ceux qui ont été obtenus par Metchnikoff chez les scorpions et les larves d'*Oryctes*.

Léon Frédéricq a pu provoquer chez le lapin la formation de précipitines par l'injection du sang de vers à soie agissant sur le sang de cet animal. H. Frédéricq a entrepris des recherches sur les précipitines chez les invertébrés. Les animaux d'expérience appartiennent à plusieurs groupes d'invertébrés : insectes (chenilles de *Sericaria mori*), des mollusques gastéropodes (*Haliotis tuberculata*), des mollusques céphalopodes (*Octopus vulgaris* et *Sepia officinalis*) et des crustacés (*Homarus vulgaris*, *Palinurus vulgaris*, *Carcinus moenas*, *Portunus puber*, *Cancer pagurus*, et *Astacus fluviatilis*). Parmi les protéines étrangères, l'auteur a choisi le plus souvent des substances très différentes des albumines normales des invertébrés, albumine de l'œuf de poule, albumine du sérum de bœuf. Il est inutile de citer en détail les expériences de Frédéricq. Nous nous contentons de dire que Frédéricq n'a pas pu constater l'apparition d'un précipité lorsqu'on mélange *in vitro* des quantités variables du sang de l'animal préparé et la protéine étrangère qui avait servi aux injections successives.

Mesnil en 1901 avait nourri *Anemonia sulcata* de sang coagulé de Pulpe et de Brebis sans constater chez cet animal la présence d'aucune substance spécifique.

Les travaux de J. Cantacuzène présentent un intérêt considérable en ce qui concerne les anticorps en général chez les invertébrés. Dans une note (1912) Cantacuzène démontre que le sang d'*Eupagurus prideauxii* présente un pouvoir hémolytique très accentué pour les hématies de lapin et de mouton. Nous remarquons que cette conclusion est en contradiction avec l'opinion de Naguchi que les animaux sans érythrocytes n'ont pas d'anticorps contre ces éléments. Cantacuzène dit que cette hémolyse se fait rapidement à la température du laboratoire ; elle est précédée par une courte phase d'agglutination des hématies ; elle a lieu aussi bien et avec la même rapidité *in vitro* que chez l'animal vivant. Le sang d'*Eupagurus* présente un pouvoir agglutinant pour le colibacille. Cantacuzène a cherché chez différents invertébrés la présence du complément, il n'en a pas trouvé. Il a cherché s'il était possible d'obtenir expérimentalement des anticorps chez quelques invertébrés marins. Chez *Phaallusia mamillata* il lui a été impossible d'obtenir un pouvoir hémolytique du sang sur les hématies de lapin. On constate seulement une forte agglutination que l'on obtient au même degré avec le sang de *Phallusia* normale. Par contre, dix jours après la quatrième injection, le sang des individus inoculés avec du sérum de lapin donne bien, quand on le mélange avec le sérum de lapin, un précipité abondant à gros flocons. Mais le sang normal possède un pouvoir précipitant faible. *Cette propriété précipitante n'est pas spécifique*, elle porte également sur le sérum du lapin et sur celui de cheval. (Donc ces résultats sont douteux ; en tous cas, on ne peut pas parler d'anticorps acquis, puisque les

anticorps acquis sont spécifiques). Chez *Aphrodite aculeata*, on ne peut pas non plus obtenir des anticorps acquis hémolytiques pour le sang de lapin. Chez l'*Eledone moschata*, il a été impossible aussi d'obtenir un pouvoir hémolytique pour les hématies de lapin. Par contre, Cantacuzène obtient chez *Eupagurus prideauxii* (1913) le pouvoir précipitant pour le sérum de lapin chauffé à 56°, le pouvoir hémolytique pour les hématies des lapins et le pouvoir agglutinant pour le bactérium coli. En ce qui concerne la production expérimentale d'hémo-agglutinine et de précipitine chez *Hélix pomatia*, il dit qu'il est possible d'obtenir chez cet animal le pouvoir agglutinant pour le globule rouge du mouton, pourvu que l'on attende cinq semaines après l'injection d'antigène. Il observe que les escargots alimentés avec de la poudre de sang de lapin acquièrent au bout de 5 à 6 semaines un pouvoir agglutinant absolument comparable comme intensité à celui qui apparaît à la suite des inoculations dans le pied. Il observe aussi que le sérum des escargots vaccinés contre les globules rouges par voie d'ingestion ou par voie d'inoculation, est fortement précipitant pour le sérum de lapin ou de chèvre. Cette précipitation se fait par gros flocons et non pas sous forme d'un précipité fin. Tandis que les escargots nourris au sang de chèvre n'ont manifesté aucun pouvoir agglutinant, le pouvoir précipitant de leur sérum a été des plus manifestes.

Cantacuzène a observé chez *Ascidia mentula* (1919) une infection expérimentale produite par un microbe isolé de l'intestin d'un gastéropode opisthobranche, l'*Aplysia punctata*. Les animaux inoculés avec ce microbe résistent très bien. Le mécanisme de cette résistance est la phagocytose par les amibocytes hyalins, mais en plus, au cours de l'infection, des propriétés nouvelles apparaissent dans le sang, ou

tout au moins à la surface des cellules. Dès le troisième jour, Cantacuzène a vu la tendance des bactéries à adhérer à la surface de certaines catégories d'amybocytes. *In vitro*, on peut observer une agglutination, mais cette agglutination se fait exclusivement au contact direct des cellules. Il croit démontrer que l'on peut, dans certains cas particuliers, par des injections répétées de globules rouges, faire apparaître une alexine, c'est-à-dire une substance thermolabile capable de réactiver un système hémolytique sensibilisé en provoquant l'hémolyse (cas d'Eupagurus bernardus, cas de Maïa squinado). Chez les Maïa squinado, Cantacuzène a pu constater que si le pouvoir hémolytique se développe constamment chez la Maïa ayant reçu des injections de globules de mouton, ce pouvoir est masqué, jusqu'à un certain point, par une substance antagoniste, thermolabile présente chez la Maïa normale, plus développée chez la Maïa vaccinée, qui vraisemblablement se fixe sur les globules rouges et s'oppose de la sorte à l'absorption de l'hémolysine. « Ainsi s'ex-
« plique la lenteur du processus hémolytique *in vitro*, puis
« son déclenchement brusque à partir du moment où la
« barrière a été forcée ou supprimée. Cette substance em-
« pêchante se fixe avec une énergie toute particulière sur
« les globules rouges sensibilisés et s'oppose de la sorte à
« l'absorption de l'alexine des vertébrés ou de l'hémolysine
« de l'Eupagurus très diluée. En modérant l'intensité et la
« rapidité des réactions lytiques extra-cellulaires, elle per-
« met aux éléments phagocytaires d'accomplir plus sûre-
« ment leur rôle ».

Hollande (1919) prétend à la suite de ses expériences que le sang des insectes, malgré sa richesse en leucocytes variés, ne renferme pas d'alexine. Cette propriété ne serait pas indispensable chez les insectes aux phénomènes de diges-

tion leucocytaire qui accompagnent la phagocytose et la métamorphose. L'immunité acquise peut également s'obtenir chez ces animaux sans alexine.

De l'ensemble de ces faits résulte que la question des anticorps chez les invertébrés est encore à étudier. Des auteurs également dignes de foi et également rompus à l'expérimentation ont, les uns trouvé des anticorps, les autres n'ont rien trouvé. Il nous faut remarquer que les types étudiés ne sont pas les mêmes et que, par conséquent, les uns et les autres peuvent avoir raison. On ne voit pas encore la raison des différences constatées (le même groupe zoologique présentant chez certains types des anticorps et chez d'autres pas).

CHAPITRE II

Recherches personnelles relatives aux anticorps normaux et acquis chez les invertébrés.

Dans la partie historique nous avons exposé seulement les faits constatés par différents chercheurs sans entrer dans les détails d'explication qui ont été donnés pour pénétrer dans leur mécanisme intime. Nous allons tâcher, avant de détailler nos expériences, de donner quelques précisions en ce qui concerne la définition des anticorps et leur substratum.

La définition des anticorps a été donnée par plusieurs auteurs ; nous allons admettre celle de M. J. Bordet : « Tout « élément qui, introduit dans les tissus, provoque l'appari- « tion d'un anticorps dans le sérum est, par définition, un « antigène ; toute substance spécifique du sérum élaborée « par l'organisme en réponse à l'administration d'un anti- « gène et capable de réagir avec celui-ci s'appelle un anti- « corps ». Cette définition est admissible lorsqu'on parle des anticorps acquis, mais elle ne l'est plus lorsqu'on parle des anticorps normaux. Chez un animal neuf dont le sérum présente par exemple un pouvoir précipitant normal pour

un autre sérum d'une autre espèce animale, ce pouvoir ne rentre pas dans le cadre des anticorps définis plus haut. Pourquoi parler d'anticorps dans ce dernier cas, puisque l'animal qui possède déjà ce pouvoir n'a pas subi des injections du sérum qui sert d'antigène ? D'ailleurs Bordet, dans son remarquable ouvrage, s'exprime ainsi : « Il paraît donc à première vue que ce soit un non-sens de parler d'anticorps lorsqu'il s'agit de sérums provenant d'animaux qui n'ont été soumis à aucune injection préparante, puisque, comme les mots eux-mêmes l'indiquent, la notion d'anticorps et celle d'antigène sont inséparablement associées ».

Nombreux sont les auteurs qui se sont occupés de la constitution même des anticorps. Il faut le reconnaître, ces principes nous sont connus surtout par leurs effets. C'est par abus de langage qu'on parle par exemple des agglutinines, des précipitines, des antitoxines ; personne n'a isolé ces substances ; nous ne connaissons pas leur structure physico-chimique et, pour longtemps encore, elles nous seront indéfinissables physico-chimiquement, étant donné leur complexité énorme. D'après les données les plus récentes, il ne s'agirait pas de substances nouvellement formées, mais plutôt il s'agirait de propriétés spéciales nouvelles que les principes constitutifs du sérum normal acquièrent à la suite de l'introduction de l'antigène.

Après ces quelques lignes préliminaires, nous allons passer à l'étude des deux espèces d'anticorps que nous avons étudiées : *les anticorps agglutinants normaux et acquis*, ensuite *les anticorps précipitants normaux et acquis*.

Pouvoir agglutinant.

Nous allons examiner tout d'abord le pouvoir agglutinant normal, ensuite nous examinerons le pouvoir agglutinant acquis.

Description. — On appelle agglutination des microbes ou d'autres éléments, le phénomène par lequel ils se réunissent les uns aux autres pour former des agglutinants, des grumeaux sous certaines influences. Le phénomène est facile à constater. Si on prend par exemple une certaine quantité de culture liquide de bacille de la fièvre typhoïde où les microbes sont bien isolés les uns des autres, et qu'on ajoute une certaine quantité de sérum d'un typhique ou d'un animal inoculé avec le bacille en question, on voit se produire le phénomène de l'agglutination. Microscopiquement, on constate l'éclaircissement du liquide qui était primitivement trouble et au microscope, les microbes sont immobiles et agglutinés. Donc il y eut *l'immobilisation et l'agglomération* des bacilles les uns aux autres.

A. POUVOIR AGGLUTINANT NORMAL.

I. — Le pouvoir agglutinant normal du sang de l'*Hélix pomatia* (1).

En examinant de nombreuses fois le sang de l'escargot normal, soit en hibernation, soit en estivation, nous avons été frappé de voir que les globules sanguins spontanément

(1) X. Chahovitch. C. R. S. B., 18 avril 1921.

se ramassent et constituent des amas. Maintes fois nous nous sommes assuré que les sangs sont propres, c'est-à-dire non souillés par d'autres liquides de l'animal. Il ne s'agissait pas ici d'agglutiner, de phagocyter des corps étrangers se trouvant dans le sang, *cette agglutination naturelle spontanée* doit être due à quelque chose que nous ignorons complètement. Il est à noter que le sang examiné quelques secondes après sa sortie du vaisseau ne présente pas des amas de globules, ce qui prouve que l'agglutination spontanée se produit seulement lorsque les globules sont en dehors de l'organisme. Cette constatation était très importante pour nous, car elle nous a amené à chercher si le sang de l'escargot normal possédait le pouvoir agglutinant pour certaines espèces microbiennes.

Tout d'abord, nous avons cherché si le sang de l'escargot *en hibernation* possédait le pouvoir agglutinant normal pour le colibacille et le bacille pyocyanique, ensuite nous avons cherché si l'escargot en estivation possédait ce même pouvoir, dans les mêmes conditions ou non.

Nos recherches ont été effectuées sur des sangs d'escargots en diverses périodes d'hibernation. Ainsi, nous avons expérimenté avec le sang d'escargot aux mois de décembre, de janvier, de février, etc. Le sang a toujours été essayé au moment de l'expérience, par conséquent il était toujours frais. On l'obtient très facilement par section des vaisseaux pulmonaires. On sait que la culture que l'on doit employer doit être homogène. Toutes les fois que nous nous proposons de rechercher le pouvoir agglutinant, nous avons toujours employé une culture microbienne, jeune de 24 heures, et nous vérifions au microscope si elle était homogène. Dans toutes nos expériences, le sang ne fut pas dilué, par contre, à la suite de nos premières recherches, nous avons

été amené à diluer notre culture microbienne employée toujours en bouillon liquide. Ces détails de dilution seront mentionnés pendant l'exposé de nos expériences.

EXPÉRIENCE I. — Escargot en hibernation (mois de décembre). On recueille le sang par la section des vaisseaux pulmonaires. On emploie le sang centrifugé, par conséquent débarrassé des globules sanguins. On fait l'expérience avec la culture colibacillaire âgée de 24 heures, non diluée, homogène. On fait les rapports suivants : $1/5$, $1/10$ et $1/15$, c'est-à-dire une goutte de sang pour cinq gouttes de culture ; une goutte de sang pour dix gouttes de culture ; une goutte de sang pour quinze gouttes de culture. On abandonne ces mélanges dans de petits tubes à la température du laboratoire (16° à 18°). Quatre heures après on examine ces tubes macroscopiquement et microscopiquement. Macroscopiquement, on ne constate aucun éclaircissement des tubes. Au microscope, les microbes sont très mobiles, non agglomérés ; donc quatre heures après le contact des colibacilles et du sang de l'escargot en hibernation, il n'y a pas d'agglutination des microbes. Au bout de 6 heures et même 24 heures, on ne constate pas d'agglomération des microbes.

EXPÉRIENCE II. — La même expérience que ci-dessus, en remplaçant seulement la culture colibacillaire par une culture du bacille pyocyanique ; on a fait les mêmes rapports et en plus un tube contenant une goutte de sang pour une goutte de culture. Le résultat fut le même, l'absence d'agglutination.

EXPÉRIENCE III. — On dilue la culture colibacillaire à 1 pour 80, c'est-à-dire qu'on dilue une goutte de la culture colibacillaire jeune de 24 heures dans 20 gouttes de sérum physiologique à 7 %. On examine au microscope cette dilution et on constate qu'elle est homogène. c'est-à-dire que les microbes sont répartis dans le liquide, ne sont pas agglomérés. On fait un mélange : une goutte de sang pour cinq gouttes de la dilution préparée. Au bout de 4 heures macroscopiquement, on ne constate rien, c'est-à-dire que le liquide reste louche. Mais si on examine une goutte du mélange au microscope, on constate de petits amas de microbes *agglutinés, immobiles* ; à côté, on remarque des bacilles dispersés et mobiles.

La même expérience a été répétée en employant, au lieu du colibacille, des bacilles pyocyaniques ; d'ailleurs les résultats sont identiques à ceux obtenus avec les colibacilles.

Aiguillés par cette expérience, nous nous sommes appliqué à trouver une dilution qui serait la plus favorable pour montrer avec netteté la présence dans le sang de l'escargot

en hibernation du pouvoir agglutinant normal. Après divers essais nous sommes arrivé à utiliser une dilution à 5 % (5 gouttes de culture âgée de 24 heures en bouillon liquide dans 100 gouttes du sérum physiologique à 7 %). C'est la plus favorable pour l'étude du pouvoir agglutinant chez l'escargot.

EXPÉRIENCE I. — Culture colibacillaire de 24 heures en bouillon liquide diluée à 5 %. L'examen microscopique de la dilution montre qu'elle est homogène; les microbes sont dispersés et mobiles. On recueille le sang d'un escargot (mois de janvier) par le procédé habituel : section des vaisseaux pulmonaires. On fait les mélanges suivants : une goutte de sang pour 5 gouttes de culture diluée ; une goutte de sang pour 10 gouttes de culture diluée ; une goutte de sang pour 15 gouttes de culture diluée ; une goutte de sang pour 20 gouttes de culture diluée. On abandonne le tout dans de petits tubes et on les laisse à la température du laboratoire.

Au bout de 1, 2, 3, 4, 5 et même 6 heures, on ne constate macroscopiquement aucun éclaircissement dans les tubes. Si on examine ces mélanges au microscope, on constate au bout d'une heure dans le tube à 1 pour 5, de petits amas de microbes agglutinés et immobiles ; dans le tube à 1 pour 10, les amas sont bien plus petits ; on a rien dans les tubes à 1 pour 15 et à 1 pour 20. Si on examine les tubes au bout de 3 heures, l'agglutination est plus considérable dans les 2 premiers tubes ; une très légère agglutination se produit dans les deux derniers (fig. 11).

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus en employant seulement à la place de la culture colibacillaire, la culture du bacille pyocyanique. La dilution de la culture est toujours à 5 % et les mélanges sont faits dans les rapports suivants : une goutte de sang pour 5 gouttes de la dilution ; une goutte de sang pour 10 gouttes de la dilution ; une goutte de sang pour 15 gouttes de la dilution ; une goutte de sang pour 20 gouttes de la dilution. Macroscopiquement, on ne constate rien au bout de 1, 2, 3, 4, 5 et même 6 heures, aucun éclaircissement des mélanges, pas d'amas visibles à l'œil nu. Par contre, l'examen microscopique, au bout d'une heure on observe déjà de petits amas dans le premier tube, et moins petits dans le deuxième tube ; rien dans les deux derniers. Au bout de 3 heures, dans le premier tube, les amas sont plus grands également dans le second et on constate une légère agglutination dans les deux derniers tubes (fig. 12).

La conclusion de ces faits, c'est que le sang de l'Helix pomatia en hibernation possède normalement et sans introduction préalable d'antigène, la propriété d'agglutiner faiblement certaines espèces microbiennes (le colibacille et le bacille pyocyanique).

Si on colore les frottis des microbes agglutinés, soit au bleu de méthylène, soit au thionine, ces colorants ont agi avec la même intensité que sur les microbes normaux.

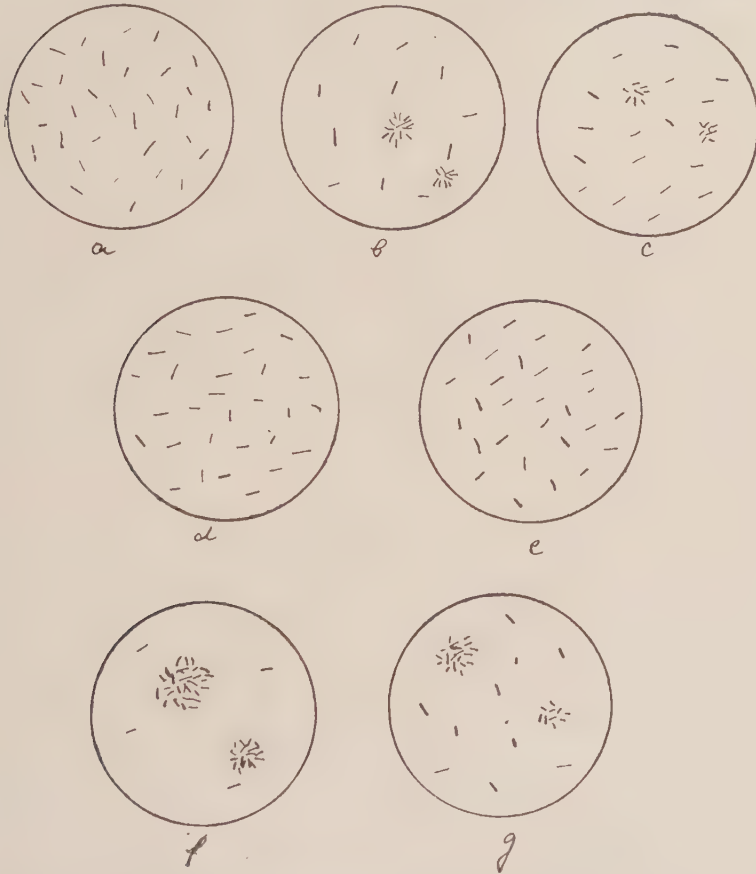


Fig. 11. — Le pouvoir agglutinant normal du sang de l'*Helix pomatia* pour le colibacille : a) avant le mélange, culture diluée à 5 % ; b) au bout de 1 heure, tube 1 à 1/5 ; c) au bout de 1 heure, tube 2 à 1/10 ; d) au bout de 1 heure, tube 3 à 1/5 ; e) au bout de 1 heure, tube 4 à 1/20 ; f) au bout de 3 heures tube 1 à 1/5 ; g) au bout de 3 heures, tube 2 à 1/10.

Nous avons voulu nous rendre compte si le pouvoir agglutinant normal de l'*Helix* est thermostable, c'est-à-dire que

le sang chauffé à $+ 60^{\circ}$ conserve toujours son pouvoir agglutinant. L'expérience était facile à réaliser.

EXPÉRIENCE I. — On chauffe le sang de l'escargot au-dessus de $+ 60^{\circ}$. On fait l'expérience avec ce sang chauffé. La culture est diluée au même taux et les mélanges sont faits dans les mêmes rapports. Les résultats obtenus sont identiques à ceux obtenus avec le sang non chauffé. Donc, le pouvoir agglutinant normal du sang de l'escargot en hibernation n'est pas entravé par le chauffage au-dessus de $+ 60^{\circ}$.

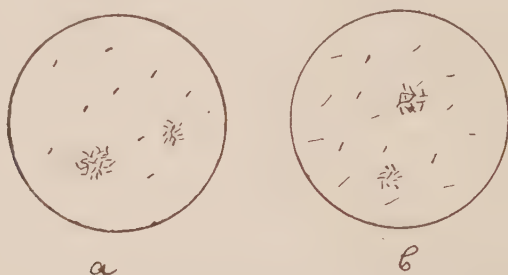


Fig. 12. — Le pouvoir agglutinant normal du sang de l'*Hélix pomatia* pour le bacille pyocyanique : a) tube 1 au bout de trois heures ; b) tube 2 au bout de trois heures.

Au cours des examens de nos tubes dans toutes les expériences relatées ci-dessus, nous avons eu l'occasion de surprendre des microbes dont une extrémité est collée à la masse agglutinée, et dont l'autre extrémité nage dans le liquide ambiant et possède encore ses mouvements. Nous avons suivi dans quelques cas le sort de ces microbes ; quelques minutes après on les voit perdre le mouvement et rester immobiles.

Ces expériences ont été faites avec le sang de l'*Hélix* en hibernation. On connaît les différences physiologiques entre la vie de l'escargot en hibernation et celle de l'escargot en vie active. En partant de ces considérations théoriques, nous ne pouvions pas admettre *à priori* que le pouvoir agglutinant constaté dans le sang de l'escargot en hibernation existe forcément dans le sang de l'escargot en vie active.

Des expériences supplémentaires étaient nécessaires pour fixer nos idées sur ce point. Plusieurs hypothèses pouvaient être envisagées : si le pouvoir agglutinant existe, est-il plus intense ou moins intense ? Ou bien ce pouvoir agglutinant constaté dans le sang de l'escargot en hibernation n'existe-t-il pas dans le sang de l'escargot en estivation active ? Or, de nombreuses expériences que nous avons réalisées pendant la période estivale nous ont montré que le sang de l'escargot en estivation active possède le pouvoir agglutinant normal pour les bacilles pyocyaniques et colibacilles.

Ce pouvoir est de la même intensité que dans le sang de l'escargot en hibernation. Nous n'allons pas donner le compte-rendu de ces expériences puisqu'elles sont calquées sur celles pratiquées en période d'hibernation.

II. — Le pouvoir agglutinant normal du sang des Anodontes.

Nous plaçons nos expériences sur le pouvoir agglutinant du sang des Anodontes à côté de celles effectuées sur l'Hélix, étant donné que ces deux espèces animales appartiennent au même groupe zoologique des mollusques.

EXPÉRIENCE I. — On fait une dilution d'une culture colibacillaire à 40 % (10 gouttes de culture pour 100 gouttes de sérum physiologique à 7 %). On recueille le sang en sectionnant le pied des anodontes. On fait les mélanges suivants : une goutte de sang pour 5 gouttes de la dilution, une goutte de sang pour 10 gouttes de la dilution, une goutte de sang pour 15 gouttes de la dilution, une goutte de sang pour 30 gouttes de la dilution. On laisse les tubes à la température du laboratoire. Macroscopiquement au bout de 1, 2, 3, 4, 5 et même 24 heures on ne constate aucun éclaircissement des tubes, pas de grumeaux visibles. Au microscope on ne constate pas d'agglomération des microbes, ni au bout de 3 heures, ni de 6 heures. Mais si on examine les tubes au bout de 24 heures, on constate de petits amas de microbes immobiles ; les amas sont très rares, il faut faire plusieurs prépa-

rations pour trouver un ou deux amas. Or, pour vérifier si cette agglutination est réelle, nous avons fait quelques préparations avec la dilution microbienne seule. Le microscope nous a montré l'existence de petits amas de microbes agglutinés et immobiles. Donc, notre expérience était mise en doute et demandait confirmation.

EXPÉRIENCE I bis. — La dilution employée est celle d'une culture colibacillaire à 10 % (culture âgée de 24 heures). On recueille le sang d'une anodonte par le procédé habituel : section du pied. On fait les mélanges suivants : une goutte de sang pour 5 gouttes de dilution ; 1 goutte de sang pour 10 gouttes de dilution. On laisse les tubes à la température du laboratoire. L'examen microscopique de la dilution nous montre qu'elle est homogène. Macroscopiquement, on ne constate rien, même au bout de 24 heures. Au microscope le résultat est négatif même au bout de 24 heures.

Comparativement, nous avons effectué, dans les mêmes conditions, en employant la même technique, des expériences avec les bacilles pyocyaniques. Nous croyons inutile de donner le compte-rendu de ces expériences qui sont calquées sur celles du colibacille, et nous nous contentons de dire que les résultats obtenus sont les mêmes, c'est-à-dire : absence du pouvoir agglutinant normal du sang des anodontes pour le bacille pyocyanique. Nos résultats sont-ils négatifs parce que nous avons employé les dilutions à 10 % ? Non, car nous avons réalisé d'autres expériences avec des dilutions à 5 %, sans obtenir des agglutinations.

Donc, ces quelques expériences nous prouvent que le sang des anodontes ne possède pas le pouvoir agglutinant normal pour le bacille pyocyanique et le colibacille.

III. — Le pouvoir agglutinant normal du sang du *Bombyx mori*.

Il est très intéressant de chercher chez le *Bombyx mori* si le pouvoir agglutinant normal existe, car cet animal à évolution spéciale pourrait nous donner quelques résultats

précieux concernant leur immunité humorale. Nos recherches ont été effectuées sur le sang du premier stade (ver) et sur le liquide cavitaire du second stade, c'est-à-dire sur les chrysalides.

A. SANG DES VERS

EXPÉRIENCE I. — On recueille le sang par la section d'une patte : on fait la dilution d'une culture colibacillaire de 24 heures à 15 %. La dilution est homogène. On fait les mélanges suivants : une goutte de sang pour 5 gouttes de dilution ; une goutte de sang pour 10 gouttes de dilution. Les tubes sont laissés à la température du laboratoire. L'examen microscopique au bout d'1, 3, 6 et même 24 heures ne montre pas de grumeaux visibles, ni un éclaircissement du louche primitif. A l'examen microscopique on ne constate pas, même au bout de 24 heures, des amas microbiens, les microbes sont mobiles et dispersés.

EXPÉRIENCE II. — On recueille le sang de plusieurs vers par section d'une patte. On fait la dilution à 10 % avec une culture colibacillaire âgée de 24 heures. On fait le mélange suivant : une goutte de sang pour 5 gouttes de dilution ; une goutte de sang pour 10 gouttes de dilution. La dilution est homogène. On laisse les tubes à la température du laboratoire (16° à 20°). L'examen macroscopique et microscopique même au bout de 24 heures ne montre pas de microbes agglutinés.

EXPÉRIENCE III. — Dilution à 5 %. Elle est homogène. On recueille le sang par section d'une patte. On fait les mélanges : une goutte de sang pour 5 gouttes de dilution ; une goutte de sang pour 10 gouttes de dilution. Température du laboratoire (16° à 20°). Aucune agglutination même au bout de 24 heures.

Donc, le sang de ver à soie ne possède pas le pouvoir agglutinant normal pour le colibacille.

EXPÉRIENCE I. — On dilue à 15 % une culture de bacille pyocyanique âgée de 24 heures. On recueille le sang d'un ver par la section d'une patte. La dilution est homogène. On fait les mélanges suivants : une goutte de sang pour 5 gouttes de dilution ; une goutte de sang pour 15 gouttes de dilution ; une goutte de sang pour 20 gouttes de dilution. On laisse les tubes à la température du laboratoire. Macroscopiquement, au bout d'1, 2, 3, et même 24 heures, on ne constate pas d'éclaircissement du louche. Au microscope, aucune agglutination des microbes.

On a effectué d'autres expériences en employant non pas

une dilution à 15 % mais des dilutions microbiennes à 10 % et 5 %. Toujours nous avons eu des résultats négatifs, c'est-à-dire absence d'agglutination dans les tubes même au bout de 24 heures.

Donc, le sang normal des vers à soie ne possède pas le pouvoir agglutinant pour le bacille pyocyannique.

B. LE LIQUIDE CAVITAIRE DES CHRYSALIDES

EXPÉRIENCE I. — *Le colibacille*. La dilution de la culture est à 5 % ; elle est homogène (examen microscopique). On recueille le liquide cavitaire par la section du corps. On fait les mélanges suivants : une goutte du liquide cavitaire pour 5 gouttes de dilution ; une goutte du liquide pour 10 gouttes de dilution. On laisse les tubes à la température du laboratoire (16° à 20°). Macroscopiquement, on ne constate rien au bout de quelques heures ; au microscope : pas d'amas microbiens ; les microbes sont dispersés et mobiles.

EXPÉRIENCE II. — *Le bacille pyocyannique*. Dilution à 5 % ; elle est homogène. On recueille le liquide cavitaire par la section du corps. On fait les mélanges suivants : une goutte du liquide pour 5 gouttes de dilution ; une goutte du liquide pour 10 gouttes de dilution. On laisse les tubes à la température du laboratoire (16° à 20°). Macroscopiquement et microscopiquement, on ne constate aucun pouvoir agglutinant.

En résumé, ces expériences démontrent que le liquide cavitaire des chrysalides des bombyx ne possèdent aucun pouvoir agglutinant normal pour le colibacille et le bacille pyocyannique.

IV. — Le pouvoir agglutinant normal du sang de *Periplaneta orientalis*.

Il est très difficile d'obtenir du sang pur chez ces animaux. Il faut en sacrifier beaucoup pour obtenir, par hasard, quelques gouttes du sang pur qui puisse servir à l'essai du pouvoir agglutinant.

EXPÉRIENCE I. — *Le colibacille*. Culture jeune de 24 heures diluée à 5 %. La dilution est homogène. On recueille du sang pur. On fait les mélanges suivants : une goutte de sang pour 5 gouttes de dilution ; une goutte de sang pour 10 gouttes de dilution, une goutte de sang pour 15 gouttes de dilution, une goutte de sang pour 20 gouttes de dilution. On laisse les tubes à la température du laboratoire (16° à 20°). Au bout de 1, 2, 3, 5, 24 heures, macroscopiquement, on ne constate aucun éclaircissement des tubes : les liquides restent louches. Au microscope aucune agglutination même au bout de 24 heures.

EXPÉRIENCE II. — Le bacille pyocyanique. Dilution à 5 %, elle est homogène. On recueille du sang pur. On fait les mélanges suivants : une goutte de sang pour cinq gouttes de dilution, une goutte de sang pour dix gouttes de dilution, une goutte de sang pour quinze gouttes de dilution, une goutte de sang pour vingt gouttes de dilution. Les tubes sont laissés à la température du laboratoire. Aucune constatation positive au bout de 24 heures.

De ces expériences il résulte que le sang de Periplanetas orientalis ne possède pas le pouvoir agglutinant normal pour le bacille pyocyanique et le colibacille.

V. — Le pouvoir agglutinant normal du sang de l'écrevisse.

Il est facile d'obtenir du sang pur de l'écrevisse par ponction du cœur dans la cavité thoracique.

EXPÉRIENCE I. — *Le colibacille*. On dilue une culture colibacillaire jeune de 24 heures à 5 % : la dilution est homogène. On ponctionne la cavité thoracique pour avoir du sang frais. L'expérience est réalisée de la façon suivante : on ponctionne l'écrevisse après avoir déjà compté les gouttes de dilution, et ainsi nous évitons que la coagulation se produise avant le mélange. Les proportions sont les suivantes : une goutte de sang pour cinq gouttes de dilution, une goutte de sang pour dix gouttes de dilution, une goutte de sang pour quinze gouttes de dilution, une goutte de sang pour vingt gouttes de dilution. On laisse les tubes à la température du laboratoire. Macroscopiquement, au bout de 1, 2, 4 et 5 heures, on ne remarque aucun éclaircissement, au microscope : absence d'agglutination.

EXPÉRIENCE II. — Le bacille pyocyanique. Dilution de la culture à 5 %. Elle est homogène. On recueille le sang par la ponction de la cavité thoracique. Les mélanges sont faits dans les mêmes rapports que dans l'expé-

rience ci-dessus. Les résultats sont identiques, c'est-à-dire absence du pouvoir agglutinant normal.

Nous avons effectué quelques expériences avec le sang des écrevisses chauffé au-dessus de 60°. Nous avons effectué ces expériences en partant de cette hypothèse que peut-être le sang de l'écrevisse possède une substance antagoniste qui empêche de mettre en évidence le pouvoir agglutinant qui existerait normalement. Nous avons supposé que cette substance possède cette propriété spéciale d'être détruite par le chauffage au-dessus de plus de 60°. Or, l'expérience nous a montré que notre hypothèse n'est pas démontrée par l'expérimentation et qu'il fallait admettre que le pouvoir agglutinant du sang de l'écrevisse n'existe pas pour le colibacille et le bacille pyocyannique.

Nous avons émis encore une autre hypothèse : le sang circulant de l'écrevisse *in vivo* possède-t-il le pouvoir agglutinant pour le colibacille et le bacille pyocyannique ? Pour vérifier cette hypothèse, nous avons effectué quelques expériences.

EXPÉRIENCE I. — Injection de 0,5 cm³ d'une culture colibacillaire à une écrevisse. On examine le sang au bout de 1, 2, 4 et 5 heures. On ne constate pas d'amas microbiens au microscope : les microbes sont dispersés et mobiles.

EXPÉRIENCE II. — Injection de 0,5 cm³ d'une culture du bacille pyocyannique à une écrevisse. On examine le sang au bout de 1, 2, 3 et 5 heures. On ne constate pas d'amas microbiens.

La question examinée sous toutes ses faces, du pouvoir agglutinant normal de l'écrevisse démontre que le sang de cet animal ne possède pas le pouvoir agglutinant normal pour certaines espèces microbiennes.

VI. — Le pouvoir agglutinant normal des crabes.

Par la ponction de la cavité thoracique on obtient quelques gouttes de sang suffisantes pour réaliser l'expérience.

EXPÉRIENCE I. — Culture colibacillaire jeune de 24 heures diluée à 5 % (V gouttes de cette culture sont additionnées de C gouttes de sérum physiologique à 7 %). On recueille le sang aussi pur que possible. On fait les mélanges suivants : une goutte de sang pour 5 gouttes de dilution, une goutte de sang pour 10 gouttes de dilution, une goutte de sang pour 15 gouttes de dilution, une goutte de sang pour 20 gouttes de dilution. On laisse les tubes à la température du laboratoire. La dilution est homogène (examen microscopique). Au bout de 1, 2, 4, 6 et même 24 heures, macroscopiquement, on ne constate rien d'anormal dans les tubes. Au microscope, les microbes sont dispersés et mobiles.

EXPÉRIENCE II. — Culture du bacille pyocyanique jeune de 24 heures, diluée à 5 % dans du sérum physiologique. On recueille le sang frais. On fait les mélanges suivants : une goutte de sang pour 5 gouttes de dilution, une goutte de sang pour 10 gouttes de dilution, une goutte de sang pour 15 gouttes de dilution, une goutte de sang pour 20 gouttes de dilution. On laisse les tubes à la température du laboratoire. La dilution est homogène. Au bout de 1, 2, 3, 4, 5 et même 24 heures, macroscopiquement, ni au microscope, on ne constate pas le pouvoir agglutinant normal du sang des crabes pour le bacille pyocyanique.

En résumé, le sang des crabes ne possède pas normalement le pouvoir agglutinant pour les colibacilles et les bacilles pyocyaniques.

Jusqu'à présent, nous avons étudié seulement le pouvoir agglutinant normal chez différentes espèces animales, sans mentionner nos expériences concernant le pouvoir agglutinant provoqué. Nos expériences n'ont pas pu être réalisées chez toutes les espèces, car, comme nous l'avons démontré dans la première partie de ce travail, certaines espèces succombent à la suite de l'injection des microbes dans leur cavité générale. Néanmoins, nous avons pu étudier ce pro-

blème chez deux espèces animales plus particulièrement : chez l'Hélix et l'Anodonte. Nous avons aussi examiné quelques chrysalides provenant des vers piqués au colibacille.

B. LE POUVOIR AGGLUTINANT ACQUIS.

I. — Le pouvoir agglutinant acquis chez l'Hélix pomatia.

Dans nos expériences sur le pouvoir agglutinant normal, il était très facile de titrer pour ainsi dire ce pouvoir. Dans nos expériences sur les agglutinines acquises, nous avons employé la même technique, par conséquent nos résultats peuvent être facilement comparés.

EXPÉRIENCE I. — Les inoculations microbiennes successives se faisaient toujours avec la même souche : au moment de l'expérience on préparait une culture en partant de la même souche qui avait servi aux inoculations. On a inoculé pour la première fois le 4 janvier 1921, des colibacilles à des Hélix : on a fait une deuxième inoculation le 12 et une troisième le 17. Le 25 janvier on saigne ces animaux et on procède comme dans les expériences relatées ailleurs. Les résultats sont identiques, le pouvoir agglutinant du sang n'est pas exagéré.

EXPÉRIENCE II. — On fait des inoculations, au nombre de trois, à des intervalles plus grands : deux semaines. On saigne les animaux cinq semaines après la dernière inoculation. La technique employée est toujours la même. Les résultats sont identiques, le pouvoir agglutinant normal n'est pas exagéré par l'inoculation préalable des cultures colibacillaires.

Comparativement à ces expériences, nous en avons réalisé d'autres concernant le bacille pyocyanique. Nous ne donnerons pas le compte-rendu de ces expériences qui sont calquées sur celles relatées ci-dessus. Les résultats obtenus sont identiques.

La conclusion de ces faits, c'est que le sang de l'Hélix pomatia inoculé plusieurs fois avec les colibacilles et les ba-

cilles pyocyaniques n'exagère pas son pouvoir agglutinant normal pour ces espèces microbiennes.

II. — Le pouvoir agglutinant acquis chez les Anodontes.

EXPÉRIENCE I. — Le 25 octobre 1921, on inocule pour la première fois des colibacilles à des Anodontes ; la deuxième inoculation est faite le 5 novembre et la troisième le 15 novembre. On saigne un animal le 23 novembre. On suit la technique déjà indiquée. Résultats : le pouvoir agglutinant provoqué dans le sang des Anodontes n'existe pas pour les colibacilles.

EXPÉRIENCE II. — Le 4 janvier 1922, on saigne une Anodonte inoculée avec des colibacilles pour la troisième fois, le 15 novembre 1921. L'expérience faite d'après la technique ordinaire, prouve l'absence complète du pouvoir agglutinant du sang pour les colibacilles.

Nous avons effectué aussi des expériences concernant le bacille pyocyanique. Les résultats sont identiques aux précédents.

Conclusions de ces faits : absence du pouvoir agglutinant provoqué dans le sang des Anodontes pour les bacilles pyocyaniques et les colibacilles.

III. — Le pouvoir agglutinant provoqué chez le Bombyx mori.

EXPÉRIENCE I. — On saigne plusieurs chrysalides provenant des vers piqués avec des colibacilles. On recherche dans les liquides chrysalidaires le pouvoir agglutinant pour les colibacilles. Technique habituelle. L'expérience nous a montré l'absence complète d'agglutination dans les liquides chrysalidaires pour les colibacilles.

Donc, les liquides cavitaires des chrysalides provenant des vers piqués au colibacille ne possèdent pas le pouvoir agglutinant acquis pour les colibacilles.

Toutes ces expériences, à notre avis, sont très démonstratives en ce qui concerne l'impossibilité d'obtenir des anticorps agglutinants acquis chez les différentes espèces animales que nous avons étudiées, et très démonstratives aussi pour montrer l'existence du pouvoir agglutinant normal chez une d'entre elles (*Hélix pomatia*). Au point de vue de la physiologie générale, deux faits résultent de nos recherches sur le pouvoir agglutinant. *Le premier fait, c'est l'existence du pouvoir agglutinant naturel chez les invertébrés et le second fait, c'est l'impossibilité pour un invertébré de produire des anticorps acquis. D'ailleurs, nos recherches sur l'immunisation des invertébrés contre les infections microbiennes démontrent aussi suffisamment que les invertébrés sont incapables de posséder l'immunité acquise. Ces faits seront renforcés par nos recherches concernant le pouvoir précipitant, recherches qui seront exposées plus loin.*

Mécanisme de l'agglutination. — Bien des hypothèses ont été émises pour expliquer le mécanisme de l'agglutination. Nous nous gardons d'en donner d'autres, car une hypothèse est souvent utile, mais aussi quelquefois nuisible. Néanmoins, rappelons l'opinion de Bordet : « le processus total
« de l'agglutination comprend en réalité deux phases, com-
« porte, en d'autres termes, deux phénomènes successifs.
« Le premier appartient à la science de l'immunité, c'est
« l'union de l'antigène à l'anticorps, c'est la formation d'un
« complexe, dû à l'intervention des affinités spécifiques. Le
« second est du domaine de la physico-chimie, c'est la réu-
« nion en amas, c'est le phénomène d'agglutination pro-
« prement dite. Ceci, en effet, n'est plus de la biologie. Un
« complexe vient d'apparaître, et il se fait que ce complexe,
« microbe-agglutinine, globules-agglutinines, etc., est doué
« des tendances qu'à vrai dire ses constituants ne montrent

« pas, mais qui sont tout-à-fait comparables à celles qu'une « foule de corps en suspension manifestent ». M. Bordet a démontré que l'agglutination des microbes par le sérum exige formellement la présence d'un électrolyte, ce qui démontre la complexité physico-chimique du phénomène. Les agglutinines n'ont jamais été isolées : elles ne sont pas définies chimiquement et nous les connaissons seulement par leurs propriétés biologiques.

Pouvoir précipitant.

Définition. — La définition que nous adoptons est celle de Bordet : « Dans la précipitation, les particules influencées « par le sérum sont extrêmement petites, de nature colloï-
« diales, elles se trouvaient à l'état de pseudo-solution, si
« fines souvent qu'elles ne communiquaient au liquide au-
« cune opacité perceptible : quand une liqueur limpide ou
« ne présentant qu'une opacité homogène se trouble ou se
« floconne spécifiquement par mélange avec l'immusérum
« approprié, on exprime le fait en disant que celui-ci ren-
« ferme une précipitine ». On divise les précipitines, comme les agglutinines, en deux catégories : les précipitines naturelles et les précipitines acquises. Nos recherches ont porté sur ces deux variétés d'anticorps et nous allons les exposer dans l'ordre naturel : d'abord les précipitines naturelles, ensuite les précipitines acquises.

A. LE POUVOIR PRÉCIPITANT NATUREL

I. — Le pouvoir précipitant normal de l'Hélix pomatia

Pour rechercher l'existence du pouvoir précipitant, nous avons employé différentes substances albuminoïdes nous servant d'antigène. Par l'exposé de nos expériences, on se rendra compte de ces substances employés.

EXPÉRIENCE I. — Le 23 décembre 1920, on dilue à 10 % dans du sérum physiologique (10 gouttes de filtrat, 100 gouttes de sérum) des filtrats des cultures colibacillaires. Les filtrats sont limpides. On recueille du sang d'Hélix par le procédé ordinaire (section des vaisseaux pulmonaires). On mélange le filtrat dilué dans les proportions : *a*) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué ; *b*) 1 c. c. de sang pour 2 c. c. de filtrat dilué ; *c*) 1 c. c. de sang pour 3 c. c. de filtrat dilué ; *d*) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat mais dilué à 100 % ; *e*) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat non dilué. Immédiatement ne se produit aucune opalescence, aucune floculation, les mélanges restent clairs. Si on examine les tubes au bout d'une demi-heure, 1, 2, 6, 24 et même 48 heures, on ne constate aucun changement, c'est-à-dire toujours pas de floculation ni de précipitation.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus avec les filtrats de cultures du bacille pyocyanique. Les résultats sont identiques, c'est-à-dire absence de précipitation.

Dans ces deux expériences nous avons employé une dilution de filtrats à 10 %. Nous croyons inutile de donner le compte-rendu détaillé d'autres expériences où nous avons varié le titrage des dilutions. En tout cas, nous tenons à remarquer qu'on a varié les dilutions de 5 % à 50 %. *Dans toutes les expériences les résultats sont négatifs, c'est-à-dire : absence du pouvoir précipitant normal vis-à-vis des filtrats colibacillaires et des bacilles pyocyaniques.*

A côté des filtrats microbiens, nous avons employé d'autres substances albuminoïdes comme antigènes.

EXPÉRIENCE I. — Dans cette expérience on a utilisé le sérum de chien comme antigène. On fait les mélanges dans les proportions : a) 1 c. c. de sang pour $\frac{1}{3}$ c. c. de sérum ; b) 1 c. c. de sang pour 0,5 c. c. de sérum ; c) 1 cm³ de sang pour 0,75 c. c. de sérum ; d) 1 cm³ de sang pour 1 cm³ de sérum. Lorsqu'on mélange le sérum de chien avec le sang de l'Hélix, le sérum du chien tombe au fond du tube et on a une ligne très nette de séparation entre ces deux sérums ; par contre, si on dilue le sérum du chien et si on mélange la dilution avec le sang de l'Hélix, c'est le sérum dilué du chien qui reste à la surface et c'est le sang de l'Hélix qui est au fond du tube. Mais dans les deux cas, il suffit de secouer le tube pour que le mélange devienne très homogène). Immédiatement, il ne se produit aucun louche, aucune floculation, les liquides restent clairs. Au bout de 1, 2, 3, 5, et même 24 heures, on n'obtient aucun précipité, aucune floculation, aucun louche, les liquides restent clairs.

Dans d'autres expériences nous avons varié le taux de dilution et la quantité du sang employé. Toujours, dans toutes les expériences, les résultats étaient analogues : *absence complète du pouvoir précipitant normal vis-à-vis du sérum chien.*

EXPÉRIENCE II. — On prépare une solution albumineuse avec du blanc d'œuf. On fait les mélanges dans les proportions suivantes : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de la solution albumineuse ; b) 1 c. c. de sang pour 2 c. c. de la solution ; c) 2 c. c. de sang pour 1 c. c. de la solution ; d) 3 c. c. de sang pour 1 c. c. de la solution ; e) témoin : sang pur. Aucune floculation, aucune précipitation, même au bout de 48 heures. Donc pas de pouvoir précipitant normal vis-à-vis de la solution albumineuse de blanc d'œuf.

EXPÉRIENCE III. — On emploie comme antigène le sérum de cheval antidiphthérique. On le dilue à 100 % dans du sérum physiologique. On fait les mélanges suivants : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum non dilué ; b) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué ; c) 1 c. c. de sang pour 2 c. c. de sérum dilué ; d) 1 c. c. de sang pour 3 c. c. de sérum dilué. Absence de précipitation au bout de 48 heures. On fait des dilutions encore plus étendues, les résultats sont toujours négatifs : absence de précipitation. Dans cette espérance, nous avons employé des sérums de cheval antidiphthérique. Nous tenons à signaler que d'autres expériences ont été effectuées avec du sérum de cheval normal, les résultats sont également négatifs.

Dans toutes les expériences relatées plus haut, on remarque qu'on a employé des substances albuminoïdes appartenant aux animaux supérieurs. Notre échec est-il dû à ce

fait que nous avons utilisé comme antigène des substances appartenant aux animaux supérieurs ? Dans les expériences ci-dessous, nous allons montrer que, même avec des antigènes empruntés aux invertébrés, les résultats sont négatifs.

EXPÉRIENCE I. — On prélève du sang d'une écrevisse. Le sang se coagule au bout de 1 à 3 minutes. On brise le caillot. En même temps, on prélève du sang d'un *Hélix* et on le mélange avec le sang de l'écrevisse. Aucune précipitation ne se produit dans le mélange de ces deux sérums, même au bout de 48 heures.

Dans d'autres expériences, nous avons varié les quantités de sang employé. Les résultats toujours négatifs nous indiquaient *l'absence complète du pouvoir précipitant normal du sang de l'Hélix pomatia vis-à-vis du sang de l'écrevisse et réciproquement*. Nous remarquons que toutes ces recherches sont réalisées dans les deux périodes de vie des *Hélix* et que dans les deux cas nous n'avons pu constater la présence du pouvoir précipitant normal.

II. — Le pouvoir précipitant normal chez les Anodontes.

EXPÉRIENCE I. — On saigne une Anodonte par la section des pieds. On obtient ainsi du sang frais. On prend du sérum normal de cheval. On fait les mélanges suivants : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum ; b) 4 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum ; c) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué à 20 % dans du sérum physiologique. Immédiatement il ne se produit aucune floculation, aucune précipitation. Au bout de 24 heures, les résultats sont identiques : absence de précipitation.

EXPÉRIENCE II. — On filtre des cultures colibacillaires. On recueille du sang frais des Anodontes. On fait les mélanges suivants : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat ; b) 1 c. c. de sang pour 0,5 c. c. de filtrat ; c) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 10 % ; d) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 50 %. Immédiatement il ne se produit aucune floculation, aucune précipitation. Les mélanges examinés au bout de 48 heures, restent toujours clairs, il n'y a aucun précipité.

EXPÉRIENCE III. — On filtre les cultures du bacille pyocyanique. On

recueille du sang frais d'une Anodonte. On fait les mélanges suivants : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat ; b) 1 c. c. de sang pour 0,5 c. c. de filtrat ; c) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 10 % ; d) 1 c. c. de filtrat dilué à 80 %. Immédiatement aucun précipité, aucune floculation. Au bout de 24 heures, les résultats sont identiques.

EXPÉRIENCE IV. — On recueille du sang des écrevisses. On saigne des Anodontes. On mélange ces sangs dans les proportions ; a) 1 c. c. de sang de l'Anodonte pour 0,5 c. c. de sang de l'écrevisse ; b) 2 c. c. de sang de l'Anodonte pour 0,5 c. c. de sang de l'écrevisse ; c) 1 c. c. de sang de l'Anodonte pour 1 c. c. de l'écrevisse. Aucune floculation, même au bout de 24 heures.

La conclusion de ces expériences, c'est que le sang des Anodontes ne possède pas normalement le pouvoir précipitant vis-à-vis des filtrats de certaines espèces microbiennes, du sérum de cheval et du sang de l'écrevisse.

III. — Le pouvoir précipitant normal du sang de l'écrevisse.

Dans ces expériences on a employé comme antigène le sérum de cheval, des filtrats du colibacille et du bacille pyocyanique, du sang de certains invertébrés.

EXPÉRIENCE I. — Filtrats de culture colibacillaire (culture âgée de 7 jours). On prélève du sang de l'écrevisse. On fait les mélanges suivants : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat ; b) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 15 % ; c) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 25 % ; d) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 50 %. Immédiatement aucune floculation. Les mélanges examinés au bout de 24 heures donnent toujours les mêmes résultats : absence du pouvoir précipitant.

EXPÉRIENCE II. — Filtrats de bacille pyocyanique. On recueille du sang de l'écrevisse. On fait les mélanges : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat ; b) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 15 % ; c) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. dilué à 28 % ; d) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 50 %. Immédiatement aucune floculation, aucun précipité. Les mélanges examinés au bout de 24 heures, ne donnent pas de précipité.

EXPÉRIENCE III. — On recueille du sang de l'écrevisse. On utilise comme antigène le sérum de cheval normal. On fait les mélanges dans les propor-

tions suivantes : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum ; b) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué à 25 % ; c) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué à 50 % ; d) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué à 100 %. Immédiatement aucune floculation, les liquides restent clairs. Au bout de 24 heures les résultats sont toujours négatifs.

EXPÉRIENCE IV. — On recueille du sang de l'écrevisse et d'Hélix. On fait les mélanges dans les proportions suivantes : a) 1 c. c. du sang de l'écrevisse pour 0,5 c. c. du sang de l'escargot ; b) 1 c. c. du sang de l'écrevisse pour 1 c. c. du sang de l'escargot ; c) 2 c. c. du sang de l'écrevisse pour 0,5 c. c. du sang de l'escargot ; d) 1 c. c. du sang de l'écrevisse pour 2 c. c. du sang de l'escargot ; e) 1 c. c. du sang de l'écrevisse pour 0,5 cm³ du sang de l'escargot dilué à 100 %. Immédiatement aucune floculation, pas de précipitation. Au bout de 24 heures : absence du pouvoir précipitant normal du sang de l'écrevisse vis à-vis du sang de l'escargot.

Des expériences ont été effectuées avec du sang des anodontes et des crabes. Les résultats sont les mêmes, c'est-à-dire absence de pouvoir précipitant normal dans le sang des écrevisses.

En résumé, de toutes ces expériences il résulte que le sang de l'écrevisse ne possède pas normalement le pouvoir précipitant vis-à-vis des filtrats de certaines espèces microbiennes, du sérum de cheval et des sangs de certains invertébrés.

IV. — Le pouvoir précipitant normal du sang des crabes.

Nous avons utilisé comme antigène : du sérum de cheval et des filtrats de cultures colibacillaires et du bacille pyocyanique.

EXPÉRIENCE I. — Sérum de cheval normal. On recueille du sang des crabes par ponction. On fait des mélanges dans les proportions suivantes : a) 1 c. c. du sang des crabes pour 0,5 c. c. de sérum ; b) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum ; c) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué à 50 % ; d) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué à 100 %. Immédiatement, il ne se produit aucune floculation, aucune précipitation. Les tubes examinés au bout de 24 heures ne montrent pas la floculation et la précipitation.

EXPÉRIENCE II. — Filtrat des cultures colibacillaires. On recueille du sang par ponction. On fait les mélanges suivants : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat ; b) 1 c. c. de sang pour 0,5 c. c. de filtrat ; c) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 50 % ; d) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 100 %. Immédiatement on n'obtient aucune floculation, aucune précipitation. Au bout de 24 heures, les résultats sont identiques, absence de précipitation.

Dans d'autres expériences, on a employé comme antigène les filtrats des cultures du bacille pyocyanique. Les résultats sont analogues.

Concluons que le sang des crabes ne possède pas normalement le pouvoir précipitant vis-à-vis des filtrats de certaines espèces microbiennes et du sérum de cheval.

V. — Le pouvoir précipitant normal du sang des vers à soie.

Le pouvoir précipitant fut cherché pour les filtrats du coli-bacille et du bacille pyocyanique et pour le sérum de cheval.

EXPÉRIENCE I. — On recueille du sang de vers à soie par section des pattes. On prend du sérum de cheval et on fait les mélanges suivants : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum ; b) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué à 10 % ; c) 2 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué à 10 %. On n'obtient aucune floculation, aucune précipitation, même au bout de 24 heures.

EXPÉRIENCE II. — Filtrats des cultures colibacillaires. On recueille du sang des vers par section des pattes. On fait les mélanges suivants : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat ; b) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de filtrat dilué à 10 % ; c) 1 c. c. de sang pour 2 c. c. de filtrat dilué à 10 %. Même au bout de 24 heures aucune floculation.

EXPÉRIENCE III. — On fait l'expérience ci-dessus en remplaçant le filtrat colibacillaire par le filtrat du bacille pyocyanique. Les résultats sont identiques : absence du pouvoir précipitant.

EXPÉRIENCE IV. — On prépare une solution albumineuse avec du blanc d'œuf. On recueille du sang et on fait les mélanges a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de solution albumineuse ; b) 1 c. c. de sang pour 2 c. c. de la solu-

tion ; c) 2 c. c. de sang pour 1 c. c. de la solution. On ne constate aucun pouvoir précipitant.

Donc, le sang des vers à soie ne possède pas normalement le pouvoir précipitant vis-à-vis des filtrats de certaines espèces microbiennes, du sérum de cheval et des solutions albumineuses.

B. LE POUVOIR PRÉCIPITANT ACQUIS

I. — Le pouvoir précipitant acquis du sang de l'Hélix pomatia.

EXPÉRIENCE I. — On fait des inoculations successives à des Hélix de cultures colibacillaires. La première inoculation est faite le 4 janvier 1921, la seconde le 12 et la troisième le 17. On saigne ces animaux le 25 du même mois et on procède à la recherche du pouvoir précipitant pour les filtrats de ces cultures. Technique identique. Absence du pouvoir précipitant acquis.

EXPÉRIENCE II. — On fait la même expérience que ci-dessus en remplaçant seulement la culture colibacillaire par une culture du bacille pyocyanique. Les résultats sont négatifs, donc on n'a pas provoqué dans le sang de l'Hélix en hibernation, le pouvoir précipitant pour les filtrats du bacille pyocyanique.

EXPÉRIENCE III. — Dans cette expérience on procède de la façon suivante : on inocule des cultures colibacillaires et du bacille pyocyanique à des intervalles plus grands : deux semaines. On attend pour saigner les animaux en expérience un mois après la dernière inoculation. En procédant dans nos expériences toujours de la même façon, nous n'avons pas obtenu le pouvoir précipitant pour les filtrats des cultures employées.

EXPÉRIENCE IV. — On prépare une solution ovo-albumineuse. On injecte à des escargots tous les 10 jours de cette solution pendant un mois. Après la dernière injection, on attend 30 jours, puis on saigne ces animaux pour rechercher la précipitation. Pas de pouvoir précipitant.

Après avoir effectué ces expériences, nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier si le sérum de cheval inoculé à l'escargot pouvait provoquer de la part de l'animal inoculé la production d'anticorps précipitants.

Tout d'abord, nous nous sommes appliqué à déterminer si le sérum de cheval est toxique pour l'escargot.

EXPÉRIENCE I. — On inocule à plusieurs escargots 0,5 c. c. (à chacun) du sérum normal de cheval. Les animaux supportent très bien cette injection, car nous avons gardé de ces animaux ainsi inoculés pendant deux mois sans qu'ils présentent des phénomènes morbides.

EXPÉRIENCE II. — On injecte 1 c. c. de sérum de cheval à un escargot. L'animal supporte très bien cette dose.

Nous ne sommes pas allé plus loin, car si on dépassait cette dose, on pourrait déterminer des troubles mécaniques que nous avons toujours voulu éviter.

Donc, de ces deux expériences, nous pouvons conclure que le sérum de cheval n'est pas toxique pour l'Hélix pomatia.

Après avoir constaté que le sérum de cheval n'est pas toxique pour les escargots, nous nous sommes demandé s'il y avait des modifications du nombre des globules sanguins à la suite d'une injection du sérum (0,5 cm³ par exemple). L'expérience nous a montré que le sérum de cheval injecté à des escargots ne modifie pas le nombre normal des globules sanguins. Nous avons inoculé à trois escargots 0,5 c. c. de sérum à chacun. On saigne respectivement un escargot tous les jours. La numération globulaire nous a montré que le chiffre normal (la moyenne est de 350 à 400 globules par mm³) ne varie pas après l'injection du sérum de cheval. Donc, le sérum de cheval n'est pas toxique pour les globules sanguins de l'Hélix. Cherchons maintenant le pouvoir précipitant acquis.

EXPÉRIENCE I. — Le 22 novembre 1921 on inocule pour la première fois à plusieurs escargots du sérum de cheval. On fait la deuxième injection le 17 janvier 1922. On saigne les animaux en expérience le 10 février 1922. On fait les mélanges suivants : a) 1 c. c. de sang pour 0,5 c. c. de sérum ; b) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué à 25 % ; c) 1 c. c. de sang pour 0,5 c. c. de sérum dilué à 50 %. Les mélanges sont laissés à la température du laboratoire. Immédiatement on ne constate aucune flocculation. Au bout de 24 heures et même 48 heures les résultats sont identiques, c'est-à-dire : l'absence du pouvoir précipitant.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à plusieurs escargots pour la première fois le 26 novembre 1921 du sérum de cheval. On saigne deux animaux le 19 janvier 1922. On fait les mélanges avec du sérum de cheval normal. A ce moment : absence du pouvoir précipitant. On saigne d'autres animaux en expérience plus tard, jamais nous n'avons obtenu la précipitation.

En résumé, de toutes ces expériences, il résulte un fait général : l'impossibilité de provoquer chez l'Hélix pomatia le pouvoir précipitant vis-à-vis des filtrats de certaines espèces microbiennes, du sérum de cheval et de la solution ovo-albumineuse.

Nous remarquons que toutes ces expériences sur le pouvoir précipitant acquis ont été effectuées chez l'Hélix pomatia en hibernation et en vie active. Nous avons constaté dans les deux cas qu'il n'était pas possible de provoquer des anticorps précipitants. Inutile de donner le compte-rendu de ces expériences calquées les unes sur les autres.

II. — Le pouvoir précipitant acquis du sang de l'Anodonte.

EXPÉRIENCE I. — On injecte à plusieurs anodontes des cultures colibacillaires, plusieurs fois, à des intervalles de dix jours. On saigne un animal en expérience trois semaines après la dernière inoculation. La recherche faite avec des filtrats colibacillaires donne des résultats négatifs. On saigne d'autres anodontes cinquante jours après la dernière inoculation. Les résultats obtenus sont analogues : absence du pouvoir précipitant acquis.

EXPÉRIENCE II. — On injecte à plusieurs anodontes des cultures du bacille pyocyanique : on fait trois injections, une tous les dix jours. On saigne une anodonte trois semaines après la dernière injection. La recherche du pouvoir précipitant est négative. On saigne une autre anodonte cinquante jours après la dernière injection : la recherche du pouvoir précipitant fait conclure à la négative.

EXPÉRIENCE III. — On injecte, le 27 octobre 1921, 0,3 c. c. du sérum normal de cheval à une anodonte (on inocule ainsi plusieurs anodontes). On fait la deuxième injection le 4 novembre 1921 et la troisième le 21 novembre 1921. On fait les mélanges suivants : a) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum ; b) 1 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum dilué à 20 % ; c) 4 c. c. de sang pour 1 c. c. de sérum ; d) 4 c. c. de sang pour 2 c. c. de sérum dilué à 20 %.

Immédiatement, on ne constate aucune floculation, aucune précipitation. Au bout de 24 heures, les mêmes résultats. On saigne une anodonte le 30 novembre, c'est-à-dire 16 jours après la seconde injection. La recherche du pouvoir précipitant fait conclure à la négative.

EXPÉRIENCE IV. — On fait la même expérience que ci-dessus en espaçant les injections (trois) de deux semaines en deux semaines. On saigne les animaux en expérience un mois après la dernière injection. La recherche du pouvoir précipitant acquis fait conclure à la négative.

EXPÉRIENCE V. — On injecte à des anodontes du sang d'Hélix ; donc, dans cette expérience, l'antigène appartient aux albuminoïdes des invertébrés. On a fait trois injections tous les quinze jours. On saigne les animaux en expérience cinquante jours après la dernière inoculation. Le pouvoir précipitant acquis pour le sang de l'Hélix fut trouvé absent.

Donc, ces expériences démontrent qu'il est impossible d'obtenir des anticorps précipitants acquis chez les anodontes par injection préalable d'antigène : culture colibacillaire et du bacille pyocyanique, sérum de cheval et sang de l'Hélix.

A propos de ces trois dernières expériences, nous pouvons remarquer le fait suivant : le sérum de cheval n'est pas toxique pour les anodontes ; le sang de l'Hélix n'est pas toxique pour les anodontes, et enfin l'absence du phénomène d'Arthus. En effet, Arthus avait décrit en 1903, le phénomène suivant : l'inoculation sous-cutanée de sérum de cheval est fort bien tolérée par le lapin. Mais si tous les cinq ou dix jours, on injecte sous la peau de cet animal 5 c. c. de sérum de cheval, on constate qu'après quelques injections, la résorption s'opère de plus en plus difficilement. Un exsudat épais et blanchâtre apparaît au point de l'inoculation et persiste longtemps : dans la suite un escarre se produit. Dans nos expériences, nous n'avons jamais constaté le phénomène d'Arthus. Or, au point de vue expérimental, nous étions placé dans les mêmes conditions qu'Arthus en employant seulement les animaux invertébrés et non pas le lapin. Cette constatation renforce la doctrine générale que nous soutenons au cours de ce travail et démontre une fois

de plus que les invertébrés sont essentiellement des animaux qui ne présentent pas des propriétés acquises artificiellement. D'ailleurs tout ceci est encore renforcé par d'autres expériences inédites effectuées en collaboration avec notre Maître, M. le professeur Couvreur, sur l'anaphylaxie chez les invertébrés.

III. — Le pouvoir précipitant acquis du sang des écrevisses.

Nous avons cherché le pouvoir précipitant chez l'écrevisse pour le sérum du cheval. Tout d'abord, le sérum du cheval est-il toxique pour l'écrevisse ?

EXPÉRIENCE I. — On injecte à une écrevisse 1 c. c. de sérum de cheval. Au bout de 40 minutes, l'animal ne présente rien d'anormal. Au bout de six heures, l'animal ne présente rien de particulier. Le lendemain, l'écrevisse paraît malade, elle marche difficilement, ne peut pas relever son tronc. Dans l'après-midi, l'animal ne fait plus de mouvement, son réflexe oculaire existe. Le surlendemain, l'écrevisse est morte. D'après cette observation macroscopique, nous devons conclure que le sérum de cheval est toxique à la dose de 1 c. c. pour l'écrevisse. On ne s'est pas contenté de cet examen macroscopique. Au microscope, les préparations sanguines montrent la présence de nombreuses bactéries. Donc, il est probable que la mort est due à une infection accidentelle.

EXPÉRIENCE II. — Dans cette expérience, nous avons employé aussi 1 c. c. du sérum de cheval. L'animal est mort le troisième jour d'une infection microbienne.

EXPÉRIENCE III. — On inocule à une écrevisse 1 c. c. de sérum de cheval, l'animal résiste cette fois parfaitement à cette inoculation.

Donc, le sérum de cheval n'est pas toxique pour l'écrevisse.

Y a-t-il des modifications du nombre des globules sanguins à la suite de l'injection du sérum de cheval ? Normalement, nous avons trouvé en moyenne 550 globules par mm³. L'expérience nous a montré que l'injection du sérum de che-

val ne faisait pas varier le chiffre normal des globules sanguins. Les numérations globulaires ont été pratiquées quelques heures après l'injection, le lendemain et le surlendemain. A tous les examens, le nombre fut le même. Du côté de la coagulation sanguine, nous n'avons pas constaté de modifications.

Passons à nos expériences sur le pouvoir précipitant acquis.

EXPÉRIENCE I. — Le 26 novembre 1921, on injecte à plusieurs écrevisses du sérum de cheval (0,5 c. c., dose pour chacune). Le 30 novembre, on prélève du sang et on fait la recherche du pouvoir précipitant. On ne constate aucune précipitation même au bout de 24 heures.

EXPÉRIENCE II. — Le 3 décembre 1921, on injecte du sérum de cheval à plusieurs écrevisses. Le 20 décembre, on fait la seconde injection. Le 30 janvier 1922, c'est-à-dire 40 jours après la seconde inoculation, on saigne les animaux en expérience. La recherche du pouvoir précipitant donne un résultat négatif.

EXPÉRIENCE III. — On injecte le 18 novembre 1921 plusieurs écrevisses avec du sérum de cheval. On fait la seconde injection le 5 décembre et la troisième le 20 décembre. On saigne une écrevisse le 23 janvier 1922, c'est-à-dire 33 jours après la dernière injection. La recherche du pouvoir précipitant donne un résultat négatif. On saigne une autre écrevisse le 28 janvier 1922, la recherche du pouvoir précipitant donne un résultat négatif.

Ces quelques expériences prouvent, nous le pensons, l'absence du pouvoir précipitant acquis, c'est-à-dire l'impossibilité de la part des écrevisses de produire des anticorps précipitants.

Le fait général qui découle de nos expériences sur le pouvoir précipitant acquis chez les invertébrés est le suivant : impossibilité pour ces animaux de réagir à l'introduction d'antigène. Nous étions très heureux de pouvoir expérimenter pour nos recherches sur des espèces animales qui normalement ne possèdent pas le pouvoir précipitant : on connaît les difficultés pour ce genre de recherches dans le cas où on constate déjà le pouvoir précipitant. Dans nos expériences, ces difficultés étaient écartées puisque, normalement, les

animaux en expérience ne présentaient pas le pouvoir précipitant.

Considérations générales.

Quand on lit très attentivement les travaux de Cantacuzène, on se rend compte que, dans toutes ses expériences, on constatait déjà l'existence des anticorps recherchés. Il nous est donc très difficile d'admettre ses conclusions. A la suite de nos recherches, nous sommes amené à conclure : *les invertébrés sont incapables de produire des anticorps acquis*. C'est un fait dont il faut chercher le pourquoi.

Déjà on n'est pas fixé très exactement, chez les vertébrés, pour savoir quels sont les éléments de l'organisme qui se chargent de produire des anticorps. Le problème est extrêmement difficile et il n'est pas résolu. On sait que, pour qu'un anticorps apparaisse, il faut injecter un antigène qui sollicite l'activité des cellules sécrétrices d'anticorps et il faut qu'il soit traité par celles-ci comme un élément anormal. D'après certains auteurs, ce sont les phagocytes, la rate, les ganglions lymphatiques, la moëlle osseuse qui se chargent de fabriquer des anticorps. Or, toutes les expériences qui tâchent de démontrer ces faits sont critiquables. Nous n'alions pas entrer dans les détails. Nous croyons intéressant néanmoins de donner seulement quelques faits sur l'origine des anticorps chez les vertébrés pour les mettre en face des invertébrés.

On sait que Krauss et Levaditi (1904), Cantacuzène (1908), ont observé que chez les lapins injectés de sérum de cheval dans le péritoine, la précipitine se retrouve tout d'abord dans l'extrait épiploïque. Lorsque l'injection est pratiquée

sous la peau, l'anticorps se décèle en premier lieu dans la rate, la moëlle osseuse et les ganglions. La méthode de culture des tissus *in vitro* était toute indiquée pour l'étude de l'origine des anticorps. Carrel et Ingebrigtsen (1912), ont constaté que dans les cultures en plasma d'organes de cobaye (ganglions, rate, moëlle osseuse), additionnée de globules rouges lavés, de chèvre, une sensibilisatrice hémolytique impressionnant ces éléments apparaît au bout de cinq jours environ. On n'observe rien de semblable lorsqu'on n'ajoute pas de globules. Ces résultats ont été confirmés par Lüdke (1912), Reiter (1913) et Przygode (1914). Cet auteur injecte intraveineusement à des lapins du sérum de cheval et extrait la rate 48 heures après. Cet organe a absorbé l'antigène, cultivé *in vitro* dans le plasma, il fournit la précipitine spécifique. La culture d'une rate additionnée de suspension de bacilles typhiques fournit l'agglutinine.

Ces expériences prouvent suffisamment que ce sont certains organes qui fabriquent les anticorps. Il est fort probable qu'il y a d'autres organes qui sont chargés de la fabrication de ces principes, tels que le foie, les glandes à sécrétion interne, etc. Mais il ne faut pas aller plus loin dans le domaine hypothétique et nous soulignons notre ignorance en ce qui concerne le mécanisme et l'origine de la production des anticorps.

Si maintenant nous nous transportons dans le domaine des invertébrés et si nous cherchons les homologues des organes plus haut cités, *nous ne les trouvons pas*. Evidemment, il y a des globules sanguins, mais a-t-on constaté que ces éléments sont les vrais producteurs d'anticorps? Cette considération sur l'anatomie des invertébrés est une sérieuse constatation en faveur de la non possibilité de la production des anticorps chez eux. Certes, cette preuve anatomique est

insuffisante pour expliquer cette impossibilité d'existence des anticorps acquis, mais d'autres explications seraient plus hypothétiques et nous préférons ne pas tomber dans la pure philosophie, spéculation souvent nuisible. *En tout cas, nous n'admettons pas, en nous appuyant sur nos expériences, l'existence d'anticorps acquis chez les invertébrés.*

Que faut-il penser des anticorps normaux chez les invertébrés ? Au début de cette étude, nous avons indiqué la difficulté qu'il y a à définir les anticorps normaux. Nous remarquons que le mot anticorps normal est mal choisi. En effet, il ne s'agit pas d'un corps qui a été sécrété à la suite de l'introduction d'antigène, mais il s'agit d'une propriété préexistante, normale, et qui, par conséquent, n'est pas le résultat d'une réaction de la part de l'animal. Lorsqu'on va plus loin, on constate que la signification biologique de ces phénomènes est très complexe. Nous nous réservons de les analyser dans un chapitre spécial.

TROISIÈME PARTIE

Généralités

CHAPITRE PREMIER

Schéma possible des réactions de la cellule animale.

Ce chapitre exigerait une très grande argumentation si on voulait le développer, mais ainsi on dépasserait les limites de ce travail. Nous nous réservons de revenir avec plus de détails, dans un travail ultérieur, sur ce sujet toujours controversé : une cellule animale réagit-elle toujours et partout à différentes excitations par des manifestations toujours les mêmes ? Est-elle le siège de l'élaboration de certaines substances déterminées dans toute la série animale ? En somme, une cellule appartenant à un animal d'un groupe zoologique donné, répond aux excitations déterminées par des réactions spéciales. Ces réactions sont-elles forcément obtenues par les mêmes excitations chez une cellule animale appartenant à un autre groupe zoologique ? Dans un langage abstrait, nous pouvons exprimer ces points par les formules suivantes :

Si nous représentons par A une cellule animale et par B les excitations déterminées employées par nous, on obtiendra des réactions que nous désignerons par C ; alors on aura :

$$(I) \quad A \longleftrightarrow B \longrightarrow C \text{ ou bien } C = A \times B.$$

Dans un autre cas, on aura : A' une autre cellule animale, B les excitations déterminées et C' les réactions (que l'on obtiendra ou que l'on n'obtiendra pas) ; alors on aura :

$$(2) A' \longrightarrow B \longrightarrow C' \text{ ou bien } C' = A' \times B.$$

Donc, il s'agit de savoir si C est égal à C'. Or, l'expérience montre que jamais C n'est égal à C' et, par conséquent, les réactions que l'on obtient avec la cellule A' ne sont pas les mêmes qu'avec la cellule A. Ceci pour montrer que les cellules appartenant aux différents groupes zoologiques ne sont pas dans les mêmes conditions physico-chimiques et qu'il ne faut pas, sans une expérimentation rigoureuse et prolongée, supposer l'existence de certaines lois biologiques applicables à tous les groupes zoologiques.

Il ne faut énoncer une loi comme générale que quand on a pu établir, par un nombre suffisant de faits, sa généralité.

Il y a des lois générales pour *toute cellule vivante* (assimilation, désassimilation), mais il y a aussi *des lois de groupe* (anticorps) et il y a également *des lois d'espèce*.



Lorsqu'un animal invertébré ne possède pas normalement des moyens de défense, c'est évidemment que les cellules de cet animal sont incapables d'élaborer des substances protectrices. D'après nos recherches, les cellules A d'une écrevisse, par exemple, n'élaborent pas des substances immunisantes contre les bacilles pyocyaniques, tandis que les cellules A' d'un lapin ou d'un cobaye réagiront aux bacilles pyocyaniques en produisant des substances immunisantes. Les cellules B d'un *Helix pomatia*, soit en hibernation, soit en vie active, n'élaboreront pas un anticorps précipitant pour le sérum de cheval, tandis que les cellules B' d'un lapin élaboreront des anticorps précipitants pour ce sérum. En inocu-

lant de semaine en semaine à un lapin du sérum de cheval, on obtiendra le phénomène d'Arthus, tandis qu'en inoculant ce même sérum à des Anodonta, on n'obtiendra aucun phénomène analogue, leurs cellules ne réagiront pas. Si on injecte à un cobaye un peu de sérum de cheval, puis si l'on fait une seconde injection du même sérum après un temps donné (deux semaines) nécessaire pour la préparation du phénomène, on obtiendra l'anaphylaxie. Or, rien de pareil chez une écrevisse.



Nous avons pris comme exemple les réactions des cellules, mais nous pensons en même temps à l'équilibre physico-chimique des humeurs. Il n'est pas exact de dire que l'équilibre physico-chimique des humeurs d'un crabe ou d'un ver à soie soit analogue à l'équilibre physico-chimique d'un chien. Tant que les études complètes, appuyées sur l'expérimentation, nous manquent sur cet équilibre colloïdal, nous ignorons les modifications de cet équilibre, modifications déterminées par des facteurs nouveaux. Rien de plus probable que cette hypothèse à savoir qu'un facteur nouveau, dans un équilibre colloïdal donné, ne donnera pas les mêmes perturbations dans un autre équilibre qui ne serait pas analogue au premier. Or, un équilibre est en rapport avec l'espèce correspondante, laquelle est déterminée par différents facteurs. Un être appartenant à une espèce animale est fonction de certaines conditions dans lesquelles il se trouve à un moment donné. Combien est différente la concentration moléculaire d'un Hélix en hibernation de celle en vie active !

Pendant la croissance, l'équilibre physico-chimique est « arrangé » de telle façon que celle-là soit favorisée au maximum. Si un nouveau facteur intervient en déséquali-

brant cet arrangement déterminé, la croissance est troublée.

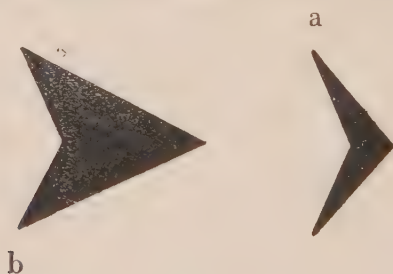
Donc, l'équilibre colloïdal d'un être appartenant à une espèce animale est fonction de multiples facteurs : milieu dans lequel il vit, âge, constitution anatomique le plaçant dans un groupe zoologique particulier, etc...



L'immunisation n'est qu'une adaptation, qu'une création d'une fonction nouvelle ou, plus exactement, qu'une exagération d'une fonction déjà existante, mais qui n'est pas très manifestée. Or, cette immunisation n'est pas toujours possible et pourquoi ?



L'immunisation n'est pas possible parce que l'équilibre colloïdal des humeurs et des cellules, équilibre exigé pour cette immunisation manque. L'arrangement moléculaire, au lieu d'être par exemple (schéma tout à fait arbitraire) sera



et, par conséquent, sous l'influence d'un facteur nouveau, la perturbation colloïdale ne sera pas la même dans *a* et dans *b*. Dans le premier cas, nous aurons la précipitation ; dans le second rien du tout ou quelque chose, mais qui ne sera pas la précipitation.



Tout ceci pour montrer qu'à côté des propriétés fondamentales nécessaires pour l'entretien des fonctions norma-

les, certaines cellules ou humeurs possèdent des pouvoirs d'adaptation que d'autres ne possèdent pas. Ceci doit tenir à l'arrangement de l'équilibre de ces fonctions, c'est-à-dire à l'arrangement du système des fonctions. Or, un système permettra des adaptations nouvelles tandis qu'un autre ne le permettra pas. *L'adaptation est dépendante du système colloïdal des grandes fonctions vitales.*

Graphiquement, nous pourrions représenter l'adaptation de la façon suivante (schéma d'ailleurs arbitraire).

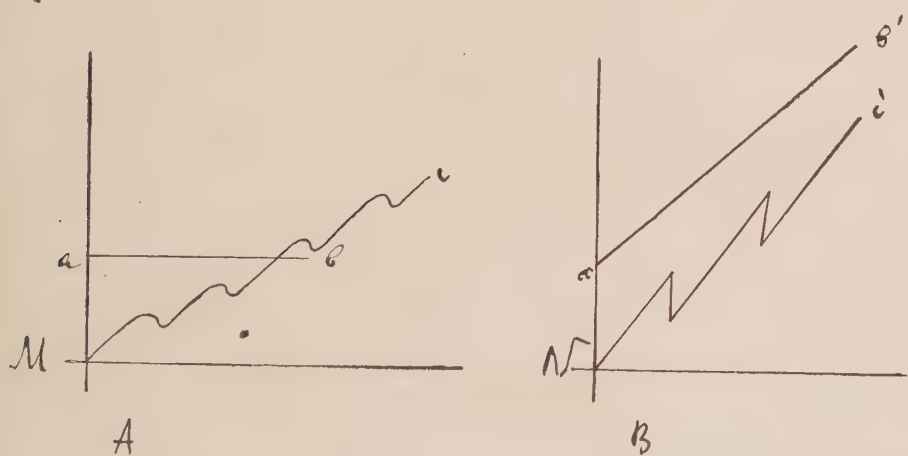


Fig. 13.

A) Adaptation possible.

B) Adaptation nulle.

Nous représentons par des courbes les systèmes colloïdaux. Dans le premier cas (A) la ligne d'adaptation $a b$ coupera à un moment donné, la courbe c du système colloïdal et il y aura possibilité d'adaptation, tandis que, dans le second cas (B), la ligne d'adaptation $a' b'$ ne sera jamais atteinte par la courbe c' du système colloïdal.

Par adaptation, nous désignons, entre autres, les possibilités pour l'organisme de réaliser des modifications se tra-

duisant par exemple par le phénomène de l'immunité acquise ou encore de l'anaphylaxie.

En résumé, pour nous, les réactions des êtres vivants sont en rapport intime avec leur état colloïdal.

CONCLUSIONS

Insectes.

A. BLATTE (*PÉRIPLANETA ORIENTALIS*)

I. — Les blattes possèdent une résistance remarquable lorsqu'on contamine leurs voies digestives par différentes cultures microbiennes. Il y a destruction des exotoxines et des endotoxines, lesquelles ainsi rendues inoffensives par les sucs digestifs de ces animaux ne peuvent plus déterminer leur mort. Il n'y a pas de passage de microbes du tube digestif dans la cavité générale. (Protection mécanique).

II. — Les blattes dont les voies respiratoires sont contaminées par différentes cultures microbiennes résistent à cette contamination. Le mécanisme de la résistance réside dans le fait qu'il y a une barrière mécanique infranchissable pour les microbes et les toxines, réalisée par l'épithélium respiratoire. Il n'y a pas d'absorption des toxines par l'épithélium respiratoire.

III. — Les blattes ne possèdent aucune immunité naturelle contre les infections microbiennes ; elles ne possèdent aucune immunité naturelle antitoxique contre les toxines de certains microbes. Il ne nous a pas été possible d'immuniser

ces animaux par les différentes méthodes employées par nous. Donc, il n'y a pas d'immunité acquise.

B. SAUTERELLES

I. — Les sauterelles ne possèdent aucune résistance contre les cultures colibacillaires et du bacille pyocyannique introduites dans leur tube digestif. La mort est due à l'absorption des toxines de ces microbes qui ne sont pas neutralisées ou détruites par les sucs digestifs de ces animaux. Il n'y a pas de passage des microbes du tube digestif dans la cavité générale. (Protection mécanique).

II. — Les sauterelles ne possèdent aucune immunité naturelle contre les cultures colibacillaires et du bacille pyocyannique, inoculées dans leur cavité générale. Il n'y a pas d'immunité acquise.

C. GRAPHOSOMA LINEATUM L

I. — Les graphosoma ne possèdent aucune résistance naturelle contre les cultures du colibacille et du bacille pyocyannique, introduites dans leur tube digestif. La mort est due à l'absorption des toxines qui ne sont pas neutralisées ou détruites par les sucs digestifs de ces animaux. Il n'y a pas de passage des microbes du tube digestif dans la cavité générale.

II. — Les graphosoma ne possèdent aucune immunité naturelle contre les cultures colibacillaire et du bacille pyocyannique introduites dans leur cavité générale.

D. — BOMBYX MORI

1°. — *A Ver.*

I. — Les vers à soie présentent une résistance particulière contre les cultures colibacillaires introduites dans leur tube digestif. Par contre, ces vers ne possèdent aucune résistance contre les cultures du bacille pyocyannique dans les mêmes conditions expérimentales. Dans le premier cas, le mécanisme de la résistance s'explique par la destruction des cultures colibacillaires par les sucs digestifs. Dans le second cas, il n'y a pas de destruction microbienne, ni de toxines ; celles-ci sont absorbées et déterminent par une intoxication grave la mort de l'animal.

Il n'y a pas de passage des microbes du dehors (tube digestif), en dedans (cavité générale).

II. — Les vers ne possèdent aucune immunité naturelle contre les cultures du bacille pyocyannique introduites dans leur cavité générale. Par contre, ces vers possèdent une immunité naturelle contre les cultures colibacillaires. Dans le premier cas, il y a mort par intoxication, dans le second cas, il y a destruction des microbes et des toxines.

Expérimentalement *in vitro* on obtient avec le sang la destruction des colibacilles et des bacilles pyocyaniques en dehors de toute phagocytose, ce qui démontre la *préexistence* d'un pouvoir destructeur dans les humeurs des vers à soie.

B. CHRYSALIDES.

I. — Les chrysalides ne possèdent aucune immunité naturelle contre les cultures du bacille pyocyannique. La mort est la suite d'une intoxication grave par les toxines pyocyaniques.

II. — Les chrysalides possèdent une immunité naturelle remarquable contre les cultures du colibacille. Le mécanisme de cette immunité s'explique par la destruction des microbes et des toxines en dehors des éléments sanguins par les humeurs. D'ailleurs ces humeurs détruisent aussi le bacille pyocyanique, mais ne neutralisent pas leurs toxines qui déterminent la mort. Le pouvoir destructeur est *présistant*.

C. PAPILLONS.

I. — Les papillons ne possèdent aucune immunité naturelle contre les cultures du bacille pyocyanique. Ces cultures déterminent la mort des animaux inoculés. Par contre, ces mêmes papillons possèdent une immunité naturelle remarquable contre les cultures colibacillaires.

II. — Il n'y a pas de passage des microbes des papillons étudiés par nous dans les œufs pondus et fécondés par eux. Donc, il n'y a pas, dans ces cas, d'hérédité microbienne.

III. — Il n'y a pas de passage des microbes étudiés par nous des vers et des chrysalides dans les papillons. Pendant la métamorphose, les microbes sont détruits par les humeurs diverses existant aux différents stades pendant lesquels les microbes sont inoculés. La recherche des microbes dans l'organisme des papillons provenant de chrysalides et de vers contaminés fut négative. Ces recherches d'ailleurs, confirment les résultats obtenus *in vitro* avec les humeurs des vers et des chrysalides.

2° Il n'est pas possible d'immuniser le Bombyx Mori à ses différents stades de développement contre la culture du bacille pyocyanique. *Donc, pas d'immunité acquise.*

Crustacés Décapodes (crabe, écrevisse).

A. Les Crustacés Décapodes possèdent une résistance particulière contre les cultures colibacillaires et celles du bacille pyocyanique lorsque ces cultures sont introduites dans leur tube digestif. Cette résistance est due à la destruction de ces microbes par les sucs digestifs et à la neutralisation ou à la destruction des toxines par ces mêmes sucs digestifs.

B. — Les Crustacés Décapodes possèdent une résistance particulière contre les cultures colibacillaires et du bacille pyocyanique lorsque ces animaux sont infectés du côté des voies respiratoires. Cette résistance est due à la barrière mécanique réalisée par l'épithélium branchial. Il n'y a pas de passage des microbes de dehors en dedans.

C. — Les Crustacés Décapodes ne possèdent aucune immunité naturelle anti microbienne (coli, pyocyanique) lorsque ces microbes sont inoculés directement dans la cavité générale de ces animaux. A la suite de ces injections, on ne constate pas de phagocytose ; on constate une diminution du nombre globulaire qui est due à la désintégration des globules surtout de ceux qui présentent des granulations (les globules âgés), la mort est généralement plus rapide avec le bacille pyocyanique.

Les Crustacés Décapodes ne possèdent aucune immunité naturelle antiendotoxique contre les endotoxines microbiennes ; par contre, ils possèdent une immunité naturelle anti-exotoxique complète contre les exotoxines de ces mêmes microbes.

Tous les procédés employés pour immuniser ces animaux ont échoué. Jamais on n'a pu les immuniser contre les corps microbiens vivants, ni contre les endotoxines.

Mollusques.

A. GASTÉROPODES. — *Hélix pomatia*.

1° *En hibernation.*

I. — Les *Hélix pomatia* possèdent une immunité naturelle antitoxique contre les exotoxines et les endotoxines des colibacilles et des bacilles pyocyaniques. Cette immunité naturelle antitoxique n'est pas entravée par l'inoculation des substances chimiotaxiques négatives (antipyrine, quinine, acide lactique). Cette immunité n'est pas fonction de la température.

II. — Les *Hélix pomatia* possèdent une immunité naturelle antimicrobienne absolue contre les colibacilles et les bacilles pyocyaniques. Par la recherche, au moyen des cultures, on voit que les microbes sont détruits *in vivo* et *in vitro* seulement au bout d'un mois. Il n'y a pas de phagocytose par les globules sanguins, par les tissus du pied, des poumons et de la glande hépato-pancréatique. A la suite de l'injection des substances chimiotaxiques, cette immunité n'est pas entravée. C'est une immunité humorale préexistante.

2° *En vie active.*

I. — Les *Hélix* possèdent une résistance particulière contre les cultures du bacille pyocyanique et du colibacille, ingérées. Le mécanisme de la résistance, c'est la destruction des microbes par les liquides digestifs.

II. — Les *Hélix* possèdent une immunité naturelle contre les cultures colibacillaires et de bacilles pyocyaniques injectées à ces animaux. C'est une immunité humorale préexistante : action destructive *in vitro* du sang des *Hélix* sur les

microbes, la destruction de ceux-ci se fait dans un temps bien plus rapide que chez l'animal en hibernation.

B. LAMELLIBRANCHE. — *Anodonta*.

I. — Les *Anodonta* possèdent une résistance particulière contre les cultures colibacillaires et du bacille pyocyanique mises en contact avec les voies digestives et les voies respiratoires.

II. — Les *Anodonta* possèdent une immunité naturelle antitoxique et antimicrobienne contre les cultures colibacillaires et du bacille pyocyanique.

Les anticorps normaux et acquis chez les invertébrés.

A. POUVOIR AGGLUTINANT.

I. Les anticorps normaux.

Dans les différentes espèces étudiées à ce point de vue dans ce travail, nous n'avons constaté la présence du pouvoir agglutinant normal sans introduction préalable d'antigène, pour certaines espèces microbiennes (colibacille, bacille pyocyanique), que chez l'*Helix pomata*. Ce pouvoir normal existe pendant la période hibernale et la période estivale avec une intensité égale. Chez les autres espèces étudiées, nous n'avons vu aucun fait analogue.

II. Les anticorps acquis.

Il n'est pas possible de provoquer l'apparition des anticorps agglutinants chez les espèces zoologiques étudiées par nous, après l'introduction préalable d'antigène. Chez l'*Helix*

pomatia qui possède normalement le pouvoir agglutinant vis-à-vis des colibacilles et des bacilles pyocyaniques, ce pouvoir n'est pas exagéré après l'injection préalable des cultures de ces deux espèces microbiennes.

B. POUVOIR PRÉCIPITANT.

I. Les anticorps normaux.

On ne peut pas déceler la présence du pouvoir précipitant normal chez les invertébrés étudiés par nous par les différents moyens utilisables pour ces recherches. Les albuminoïdes provenant des animaux supérieurs ou des animaux inférieurs, mises en présence des sérums sanguins des invertébrés, ne provoquent pas l'apparition d'un précipité ni d'une floculation.

II. Les anticorps acquis.

Les invertébrés ne réagissent pas aux différentes substances albuminoïdes, introduites dans leur organisme, et par conséquent, on ne peut pas voir le phénomène banal de la précipitation *in vitro* qui indiquerait qu'il y a eu réaction de la part de l'animal injecté. *Donc, impossibilité de fabriquer des anticorps précipitants acquis.*

BIBLIOGRAPHIE

- BALBIANI. — Etude bactériologique sur les Arthropodes. C. R. A. S. 1886, t. 103, p. 952.
- Leçons sur les sporozoaires, 1884, p. 150 et suiv.
- BARY. — Vergleichende morphologie, und Biologie d. Pilze. 1884, p. 399.
- BORDET (J.) — *Traité de l'immunité*, 1920.
- BRUNTZ (L.) — Sur l'existence d'éléments conjonctifs phagocytaires, excréteurs chez les Schizopodes. *Arch. Zool. Exp.*, 1907.
- Sur l'existence d'éléments conjonctifs phagocytaires, excréteurs chez la Nébalie. *Arch. Zool. Exp.*, 1907.
- Nephrocytes et nephro-phagocytes chez des Caprillidées. *Arch. Zool. Exp.*, 1907.
- Remarques sur les organes globuligènes, phagocytaires et excréteurs des crustacés. *Arch. Zool. Exp.*, 1907-8.
- Etude sur les organes lymphoïdes, phagocytaires et excréteurs chez les crustacés supérieurs. *Arch. Zool. Exp.*, 1907-8.
- CANTACUZÈNE (J.) — Sur certains anticorps naturels observés chez *Eupagurus Prideauxii*. C. R. S. B., 1912-2, p. 663.
- Recherches sur la présence du complément dans le sang de divers invertébrés. C. R. S. B., 1912-2, p. 665.
- Observations relatives à certaines propriétés du sang de *Carcinus Mœnas* parasité par la sacculine. C. R. S. B., 1913, p. 103.
- Recherches sur la production expérimentale d'anticorps chez quelques invertébrés marins. C. R. S. B., p. 3, 1913.
- Sur la production d'anticorps artificiels chez *Eupagurus Prideauxii*. C. R. S. B., 1913, p. 293.
- Sur la présence d'une oxydase dans le sang de *Phallusia mamillata*. C. R. S. B., 1913, p. 633.

- CANTACUZÈNE (J.). — Production expérimentale d'hémoagglutinines et de précipitines chez l'Hélix pomatia. C. R. S. B., 1916, p. 528.
- Etude d'une infection expérimentale chez Ascidia Meritala. C. R. S. B., 1919, p. 1019.
- Anticorps normaux et expérimentaux chez quelques invertébrés marins. C. R. S. B., 1919.
- Formation d'hémolysine dans le sérum de Maïa squinado inoculé avec des hématies de mammifères. Existence dans ce sérum d'une substance antagoniste qui empêche ou retarde l'hémolyse. C. R. S. B., 1920, p. 1513.
- Les anticorps chez les invertébrés. *Revue Générale des sciences pures et appliquées*, n° II, 1920.
- CHAHOVITCH (X.). — Le pouvoir agglutinant du sang de l'escargot en hibernation. C. R. S. B., n° II, 1921.
- Le pouvoir précipitant du sang de l'escargot en hibernation. C. R. S. B., n° 19, 1921.
- CINEA. — Communication verbale in Cantacuzène.
- CORNALIA. — Monographie del Bombyce del Gelso, Milan, 1856.
- COURMONT (J.). — Précis de bactériologie (Collection Testut).
- COUVREUR (E.). — Variation des microbes chez les insectes à métamorphose. C. R. S. B., 1906.
- COUVREUR (E.) et CHAHOVITCH. — Sur un mode de défense naturelle contre les infections microbiennes chez les invertébrés. C. R. A. S., n° 13, 1921.
- COUVREUR et CHAHOVITCH. — Eontre les infections microbiennes. C. R. A. S., n° 18, 1921.
- COUVREUR et CHAHOVITCH. — Remarque à propos de la note de A. Paillot, C. R. S. B., n° 23, 1921.
- CUENOT (L.). — Les prétendus organes phagocytaires décrits par Koulvetch chez la blatte. *Arch. Zool. Exp.*, 1889.
- Le sang et les glandes lymphatiques. *Arch. Zool. Exp.*, 1891.
- Etude sur le sang et les glandes lymphatiques dans la série animale (invertébrés). *Arch. Zool. Exp.*, tome 9, 1891.
- Les organes phagocytaires chez quelques invertébrés. *Arch. Zool. Exp.*, 1892.
- Etude physiologique sur les gastéropodes pulmonés. *Arch. de Biologie*, 1892.
- Notes préliminaires : les organes phagocytaires chez quelques invertébrés. *Arch. Zool. Exp.*, 1892.

- CUENOT (L.). — Etude physiologique sur les crustacés décapodes. *Arch. Zool. Exp.*, 1893.
- Sur la physiologie de l'écrevisse. C. R. A. S., 1893.
 - Evolution des amibocytes chez les crustacés décapodes. *Bibliographie anatomique*, 1893.
 - Défense de l'organisme contre les parasites chez les insectes. C. R. A. S., 1894.
 - Etudes physiologiques sur les crustacés décapodes. *Arch. de biologie*, 1895.
 - Etudes physiologiques sur les orthoptères. *Arch. de biologie*, 1896.
 - Sur la saignée réflexe et les moyens de défense de quelques insectes. *Année biologique*, 1897.
 - La région absorbante dans l'intestin de la blatte. *Arch. Zool. Exp.*, 1898.
 - Etudes physiologiques sur les astéries. *Arch. de Zool. Exp.*, 1901.
 - Organes agglutinants et organes cilio-phagocytaires. *Arch. Zool. Exp.*, 1892.
 - L'organe phagocytaire des crustacés décapodes. *Arch. Zool. Exp.*, 1905.
 - Les organes phagocytaires des mollusques. *Arch. Zool. Exp.*, 1914-1915.
- DUBOSCQ (O.). — Recherches sur les chilopodes. *Arch. Zool. Exp.*, 1898.
- Sur les globules sanguins et les cellules à carminate des chilopodes. *Arch. Zool. Exp.*, 1898.
- FIESSINGER (N.). — Rôle de la lipase dans la défense antibacillaire. *Revue de tuberculose*, n° 3, 1910.
- Sur l'immunisation antituberculeuse de la mite d'abeille. C. R. S. B., 1920.
- FILIPPI. — Quelques observations anatomo-physiologiques sur les insectes en général et en particulier sur les vers-à-soie. *An. de l'Académie d'Agriculture de Turin*, Nov. 1850.
- FREDERICQ (L.). — Formation d'anticorps dans le sang du lapin par injection intraveineuse du sang de ver-à-soie. *Arch. Inter. de Physiol.* Tome 8, 1909.
- FREDERICQ (H.). — Les invertébrés répondent-ils par la production d'anticorps aux injections de protéines étrangères agissant comme antigènes ? *Arch. Int. de Physiol.* Tome 10, p. 139.

- GARIN (Ch.). — Etude sur un bacille parasite des larves d'Anophèles. Le bacille de Loutraz. C. R. S. B. 1918, p. 41.
- GAUTIER (Cl.). — Etudes physiologiques et parasitologiques sur les lépidoptères nuisibles. Recherches sur les larves de Pierides. C. R. S. B., 1918, p. 44.
- GRIESBACH. — *Arch. für mikroskop.* Anatomie, t. XXXVII, p. 68.
- GUERIN-MENEVILLE. — Mémoires de la Société d'Agriculture de France, 2^e série, t. V, 1849.
- HERMANN et CANN. — C. R. S. B., 1891, p. 646.
- HAEDEL. — *Die Radiolarien*, 1862, p. 104.
- HOLLANDE (A.-Ch.). — Le rôle physiologique des cellules péricardiales des insectes et leur coloration vitale par le carminate d'N H³. *Arch. Zool. Exp.*, 1916.
- Absence d'alexine dans le sang des insectes. C. R. S. B., 1919.
 - La formation du pigment brun noir (melanine) au cours de la phagocytose chez les insectes. C. R. S. B., mai 1920.
 - Remarque au sujet de la transformation en masse brunâtre des bacilles tuberculeux à l'intérieur des phagocytes. C. R. S. B., 1920. 670.
- HOLLANDE et VERNIER. — *Coccobacillus insectorum*. C. R. A. S., juillet 1920.
- JOVELLY (E.). — Les corps bactéroïdes chez la blatte n'ont pas encore été cultivés. C. R. S. B., 1914, p. 413.
- KARLINSKI. — *Centralblatt für bakteriologie*. 1889, t. V, p. 5.
- KOWALEVSKI. — Etudes expérimentales sur les glandes lymphatiques des invertébrés. Mélanges biologiques de l'Académie des Sciences de Pétersbourg. Tome 13, p. 458, 1894.
- Ein Beitrag zur Kenntnis des Exkretionsorgane. *Bid. Cent. Bd IX*, p. 233.
 - Sur la rate des mollusques. Notes préliminaires (en russe). *Mem. Soc. Naturalistes de la Nouvelle Russie*. T. XV, p. 9.
 - Sur les organes excréteurs chez les arthropodes terrestres (1^{re} partie des travaux du Congrès international de Zool., Moscou, 1892).
- LEBERT. — De la maladie de l'insecte de la soie, 1858.
- LEBERT et FREY. — *Annuaire de la Société des naturalistes de Zurich*, 1856.
- LEGER et DUBOSCQ. — Sécrétion intestinale chez les grillons. *Arch. Zool. Exp.* 1900.
- Notes biologiques sur les grillons : sécrétion intestinale. *Arch. Zool. Exp.* 1900.

- LEGER et DUBOSQ. — Les grégaires et l'épithélium intestinal chez les trachéates. *Arch. de parasitologie*, 1902-3.
- LEVY (R.). — Relation entre l'arachnolysine et les organes génitaux femelles chez les araignées. C. R. A. S., 1912, p. 77.
- Sur le mécanisme de l'hémolyse par l'arachnolysine. C. R. A. S., 1912, p. 233.
 - Sur les toxines des araignées, particulièrement des tégénaires. C. R. A. S., 1916, p. 84.
- LEYDING. — Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. *Journal des Sciences Zoologiques*, t. V, 1853.
- LOEB LEO. — Sur l'agglutination spontanée des éléments figurés du sang des arthropodes. *Année biologique*, tome IX, p. 206.
- LUBARSCH. — Untersuchungen über die Ursachen der angeborenen und erworbenenimmunität, Berlin, 1891, p. 75.
- MARINO (E.). — Atténuation de la virulence des microbes dans le tube digestif des hirudinées. C. R. S. B., 1911.
- MERCIER. (L.). — Contribution à l'étude de la phagocytose expérimentale. *Arch. Zool. Exp.*, 1905.
- Un organisme à forme levure parasite de la blatte. Levure et Nosenier. C. R. S. B., 1906, p. 1081.
 - Les corps bactéroïdes de la blatte. *Bacillus Cuenoti*. C. R. S. B., 1906, p. 682.
 - Cellules à *bacillus Cuenoti* dans la paroi des graines ovariques de la blatte. C. R. S. B., 1907, p. 758.
 - Les processus phagocytaires pendant la métamorphose des batraciens anoures et des insectes. *Arch. Zool. Exp.* 1906.
 - Un parasite du noyau d'*Amblattae* Bütschili. C. R. S. B., 1907, p. 1133.
- MERCIER ET Ph. LASSEUR. — Un bacille (*Bacillus chlororaphis*) pathogène pour certains animaux d'eau douce. C. R. S. B., 1911, p. 889.
- MESNIL. — Digestion chez les actinies. *Ann. Inst. Pasteur*, 1901, p. 352.
- METALNIKOFF (S.). — Contribution à l'étude de l'immunité de la mite des ruches d'abeilles (*Galleria mellonella*) vis-à-vis de l'infection tuberculeuse. *Archives des Sciences biologiques*, 1907.
- METALNIKOFF (S.) et N. O. SIBER. — Le mécanisme de la digestion chez les chenilles de la mite. *Pflüger's Archiv.*, 1904.
- L'immunité de la mite d'abeille. C. R. S. B., 1920.
 - L'immunité naturelle et acquise des chenilles de *Galleria Mellonella*. C. R. S. B., 1920.

- METALNIKOFF. — B. dysentérique et bactériophage de d'Hérèlle chez les chenilles de *Galleria Mellonella*. C. R. S. B., 1920.
- L'immunité de la chenille contre divers microbes. C. R. S. B., 1921.
- METALNIKOFF et H. GASCHER. — Sur la rapidité d'immunisation chez les chenilles de *Galleria*, C. R. S. B., 1921.
- METALNIKOFF. — De la tuberculose chez les insectes. C. R. S. B. 1914.
- METCHNIKOFF. — L'immunité dans les maladies infectieuses. 1901 (Masson, Paris).
- Maladies des daphnies. *Virchow's Archiv.*, 1884, t. XCVI, p. 177.
- Pathologie comparée de l'inflammation. 1892.
- Sur la digestion intra-cellulaire chez les invertébrés. *Arbeiten de Zool. Instit. Wien*, t. V.
- Recherches sur l'influence de l'organisme sur les toxines. *Ann. Inst. Pasteur*, 1897.
- Les poisons cellulaires. *R. Gén. des Sciences*, 1901.
- MORAT et DOYON. — Traité de physiologie (Masson, Paris).
- NOLF (P.). — Quelques observations concernant le sang des animaux marins. *Arch. Intern. de physiologie*, tome IV.
- NOGUCHI (H.). — On the multiplicity of the serum hoemagglutinins of cold blooded animals. *Journal of med research*, IX, 1903, 165-169.
- A study of immunization hemolysins, agglutinins, precipitins and coagulins in cold blooded animals. *Centrbltt f. Bakteriologie*. Abt I originale XXXIII, 1903, 333.
- NOGUCHI (H.). — The interaction of the blood of cold blooded animals with the reference to haemolysis, agglutination and precipitation. *Centrbltt f. Bakteriologie*. Orig. XXXIII, 1903, 382.
- NUTTALL. — Blood immunity and blood relationship. The precipitin test for blood. Cambridge, 1904.
- OSIMO. — Recherches sur la maladie actuelle des vers-à-soie, Padoue, 1839.
- PAILLOT (A.). — Existence de plusieurs variétés et races de coccobacilles dans les septicémies naturelles du hanneton. C. R. A. S., 1916, 16 nov.
- Microbes nouveaux parasites du hanneton. C. R. A. S., 11 décembre 1916.
- Les coccobacilles du hanneton. Action pathogène sur quelques chenilles de macrolépidoptères. C. R. S. B., 16 déc. 1916.

- PAILLOT (A.). — Microbes nouveaux parasites du hanneton ; action pathogène sur chenilles de *Vanessa urticae*, *Lymantria dispar* et sur ver-à-soie. C. R. S. B., 20 janvier 1917.
- Microbes nouveaux parasites des chenilles de *Lymantria dispar*. C. R. A. S., 26 mars 1917.
- Coccobacilles nouveaux parasites du hanneton. C. R. A. S. 23 décembre 1918.
- La pseudograsserie, maladie nouvelle des chenilles de *Lymantria dispar*. C. R. A. S., 27 janvier 1919.
- Karyokinèse, nouvelle réaction d'immunité naturelle observée chez les chenilles de macrolépidoptères. C. R. A. S., 23 août 1919.
- La karyokinèse, faits nouveaux et considérations générales, C. R. A. S., 27 octobre 1917.
- L'immunité acquise chez les insectes. C. R. S. B., 23 février 1920.
- La phagocytose chez les insectes. C. R. S. B., 15 mars 1920.
- Sur une réaction des micronucléocytes des chenilles d'*Euproctis chrysorrhea*, contaminées par le bacillus *melolonthae liquefaciens*. C. R. S. B., 15 avril 1920.
- Sur le polymorphisme des bactéries. C. R. A. S. 12 avril 1920.
- L'immunité chez les insectes. C. R. A. S., 18 oct. 1920.
- L'immunité naturelle chez les insectes. Etude d'un cas d'immunité humorale. C. R. A. S., 8 déc. 1919.
- Mécanisme de l'immunité humorale chez les insectes. C. R. A. S., 14 fév. 1921.
- Contribution à l'étude de l'immunité humorale chez les insectes. C. R. A. S., 28 fév. 1921.
- Influence de la température sur le mécanisme de l'immunité humorale chez les insectes. C. R. S. B., n° 14, 1921.
- PASTEUR. — Maladies des vers-à-soie. Tome I et II, 1870.
- Flacherie. C. R. A. S. 1867.
- PORTIER (P.). — Digestion phagocytaire des chenilles xylophages des lépidoptères. Exemple d'union symbiotique entre un insecte et un champignon. C. R. S. B., 1911, p. 702.
- PORTIER et SARTORY. — Sur un spicaria nouveau isolé de la chenille de *Cossus cossus*. C. R. S. B., 1916.
- Sur une variété thermophile de *fusoma intermedia* Sartory, isolée de l'*Epeira diademata*. C. R. S. B., 1916.
- REMLINGER (P.) et OSMAN NÖURI. — Vibrions cholériques ou pseudo-cholériques dans les huîtres et les moules à Constantinople. C. R. S. B., 1908, p. 550.

- SARTORY (A.) et CLERC. — Flore intestinale de quelques orthoptères. 1908, C. R. S. B.
- SZCZAWINSKA (W.). — Sérum cytotoxique pour les globules du sang d'un invertébré. C. R. S. B., 1902, p. 1303-1304.
- Sérums cytotoxiques. *Archives de Parasitologie*, tome IV, 1902-1903.
- Contribution à l'étude des cytotoxines chez les invertébrés. *Archives de Parasitologie*, 1905, p. 546.
- VON DUNGERN (E.). — Die antikorper. Resultat früheren Forschungen und neu Versuch Iena, 1903.
- Bindungsverhältnisse der Prezipitin reaktion. *Centrbltt f. Bakteriolog. Originale* XXXIV, 355-380.
- WEINBERG. — Substances hémotoxiques secrétées par les larves d'Oestres. C. R. S. B., 1908, p. 75.
- ZOTA. — Sur la transmission expérimentale du *Leptomonas pyrrocaris* chez les insectes divers. C. R. S. B., n° 27, 1921.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.....	7
PREMIÈRE PARTIE	
<i>Immunité chez les Invertébrés</i>	
Chapitre I. — <i>Historique</i>	15
Immunité chez les Insectes	15
Immunité chez les Crustacés.....	34
Immunité chez les Mollusques	39
Chapitre II. — <i>Techniques</i>	43
Contamination des voies digestives.....	44
Contamination des voies respiratoires.....	47
Contamination de la cavité générale.	50
Techniques histologiques.....	53
Choix des microbes	54
Rôle de la température.....	60
Chapitre III. — <i>Recherches personnelles relatives à l'immunité chez les Insectes</i>	63
Periplaneta orientalis.....	65
Sauterelles.....	100
Graphosoma lineatum.....	104
Bombyx Mori.....	107
Considérations générales	120
Chapitre IV. — <i>Recherches personnelles relatives à l'immunité chez les Crustacés</i>	125
Crabe.....	125
Ecrevisse.....	138

	Pages
Chapitre V. — <i>Recherches personnelles relatives à l'immunité chez les Mollusques</i>	157
Hélix pomatia en hibernation.....	158
Hélix pomatia en vie active.....	175
Anodonta.....	181

DEUXIÈME PARTIE

Anticorps chez les Invertébrés

Chapitre I. — <i>Historique</i>	187
Chapitre II. — <i>Recherches personnelles relatives aux anticorps chez les Invertébrés</i>	195
Pouvoir agglutinant.....	197
Pouvoir précipitant.....	213
Considérations générales.....	226

TROISIÈME PARTIE

Généralités

Chapitre I. — <i>Schéma possible des réactions de la cellule animale</i>	231
CONCLUSIONS.....	237
BIBLIOGRAPHIE.....	245

SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Question de Botanique : *L'immunité dans le règne végétal.*

Question de Géologie : *Les faunes de mammifères de l'époque quaternaire.*

Lu et approuvé :

LES MEMBRES DU JURY,

R. GÉRARD, E. COUVREUR, F. ROMAN.

Vu et approuvé :

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES,

MEMBRE DE L'INSTITUT,

C. DEPÉRET.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 20 mai 1922,

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE LYON,

JOUBIN.

